

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

**DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO COM ENFOQUE: NOS
PARABASALÍDEOS EM MATRIZES SUÍNAS DE GRANJA NA
MICRORREGIÃO DO VALE DO PARAIBA FLUMINENSE, RJ**

NELSON OSCARANHA GONSALES DA COSTA

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO COM ENFOQUE: NOS
PARABASALÍDEOS EM MATRIZES SUÍNAS DE GRANJA NA
MICRORREGIÃO DO VALE DO PARAIBA FLUMINENSE, RJ**

NELSON OSCARANHA GONSALES DA COSTA

Sob Orientação da Professora
Dra. Vera Lúcia Teixeira de Jesus

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C837d Costa, Nelson Oscaranha Gonsales da, 1973-
DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO COM ENFOQUE: NOS
PARABASALÍDEOS EM MATRIZES SUÍNAS DE GRANJA NA
MICRORREGIÃO DO VALE DO PARAÍBA FLUMINENSE, RJ /
Nelson Oscaranha Gonsales da Costa. - Rio de Janeiro,
2019.
46 f.: il.

Orientadora: Vera Lúcia Teixeira de Jesus.
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Pós-graduação em Medicina Veterinária/,
2019.

1. Parabasalídeos. 2. Fezes. 3. Porcas. 4.
Disenteria. I. Jesus, Vera Lúcia Teixeira de , 1959-,
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Pós-graduação em Medicina Veterinária/ III.
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

NELSON OSCARANHA GONSALES DA COSTA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), área de Concentração em Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2019

Dr^a. Vera Lúcia Teixeira de Jesus - UFRRJ (Orientadora)

Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes – UFRRJ

Dr Sergian Vianna Cardozo- UNIGRANRIO-RJ

DEDICATÓRIA

Dedico esta pesquisa a todos os VETERINÁRIOS BRASILEIROS, que prezam o bem estar dos animais, em especial, aos pesquisadores das anomalias que muito prejudicam a reprodução e a produtividade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pela oportunidade de permitir esta pesquisa que busca a cura.

Aos **Professores, Mestres e Doutores** que trilham junto comigo a busca do saber.

À **UFRRJ** por ser uma Instituição que, seriamente, apoia os docentes na pesquisa.

A minha Orientadora Profa. **Dr^a Vera Lúcia Teixeira de Jesus** do Departamento de Reprodução e Avaliação (DRA), Instituto de Zootecnia desta IFES pelo carinho e dedicação durante as atividades acadêmicas.

Aos demais Professores do DRAA pelo incentivo e sugestões durante as atividades junto ao PPGMV desta IFES

Ao meu Prof^o e amigo **Jorge Luís Baronto Pereira Jorge** Instituto de Federal do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus* Nilo Peçanha, município de Pinheiral, RJ os meus sinceros agradecimentos por compartilhar os nossos desafios durante o nosso caminhar.

Aos meus pais, Profa. **Neide Oscaranha da Costa** e Prof. **Nelson Gonsales da Costa**, pelo incentivo em todo o trajeto de minha vida.

A Dra. **Caroline Cunha Carreiro** pelo apoio durante as atividades no Laboratório de Reprodução Animal,

Aos amigos **Daniel de Castro Trindade e Rosângela Antunes Terra** pela colaboração.

Aos meus filhos, **João Gabriel de Botelho Gonsales da Costa, João Guilherme Botelho Gonsales da Costa** e **Laura Araújo** pela compreensão em ficar menos tempo comigo.

A minha esposa **Juliane Pereira Araújo** pelo carinho ajudando na minha trajetória.

Aos discentes e técnicos do IZ e do IV os meus sinceros agradecimentos e o meu muito obrigado!

O presente trabalho foi realizado com apoio da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)**, Código financiamento 001.

BIOGRAFIA

NELSON OSCARANHA GONSALES DA COSTA, filho de Neide Oscaranha da Costa e Nelson Gonsales da Costa. nasceu em 6 de outubro de 1973, no município do Rio de Janeiro, RJ. Estudou no Colégio Santo Antônio Maria Zaccaria, no Catete, Rio de Janeiro, RJ, onde completou o Ensino Básico. Em 1989, ingressou no Instituto de Federal do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus* Nilo Peçanha/Pinheiral, na formação de Técnico Agrícola. Em 1995, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Faculdade Plínio Leite, em Itaboraí, RJ, onde teve a oportunidade de fazer vários estágios nas áreas de Patologia Clínica, Nutrição de equinos, Clínica de pequenos animais e Reprodução equina. Foi monitor das disciplinas de Genética e Cirurgia. Em 1999, formou-se em Medicina Veterinária. Em 2017, ingressou no Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária na área de concentração em Patologia Animal da UFRRJ, em nível de Mestrado, para desenvolver o tema de Dissertação intitulado, “DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO COM ENFOQUE: NOS PARABASALÍDEOS EM MATRIZES SUÍNAS DE GRANJA NA MICRORREGIÃO DO VALE DO PARAIBA FLUMINENSE, RJ, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Teixeira de Jesus”.

RESUMO

Da COSTA, Nelson Oscaranha Gonsales. **DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO COM ENFOQUE: NOS PARABASALÍDEOS EM MATRIZES SUÍNAS DE GRANJA NA MICRORREGIÃO DO VALE DO PARAIBA FLUMINENSE, RJ.** 2019. 45p. Dissertação (Medicina Veterinária, Patologia Animal) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Suinocultura do Instituto Federal Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus Nilo Peçanha*, na microrregião do vale do Paraíba, mesorregião sul Fluminense, RJ, para monitoramento de Parabasalídeos, parasitos encontrados em matrizes suínas, responsáveis por disenteria e rinite atrófica, apesar da ênfase na tecnologia e no manejo sanitário do rebanho estudado. O objetivo deste trabalho foi determinar e diagnosticar a presença de Parabasalídeos nas fezes de suínos com e sem sintomatologia gastroentérica e/ou respiratória, cuja principal via de transmissão seria a feco-oral. A metodologia proposta foi avaliar a presença deste agente etiológico nas matrizes do plantel de suínos confinadas no UFRJ. Para tal, foram coletadas fezes da ampola retal, de 70 fêmeas mantidas à temperatura ambiente ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) que, ao chegarem no Laboratório de Patologia de Reprodução da UFRRJ, foram homogeneizadas em solução fisiológica tamponada (PBS) na proporção (1:10) de 5,0 gramas de fezes para 50ml de PBS, mantidas em estufa bacteriológica, a $\pm 37^{\circ}\text{C}$, durante 24h, a fim de identificar o protozoário. O diagnóstico com base na morfologia foi feito com base na observação de montagem a fresco ou através de esfregaços corados em Panóptico Rápido com auxílio de um microscópio ótico binocular e com objetivas de 10 e 40X. As amostras positivas foram mantidas em cultura para preservação do protozoário. Quanto ao resultado do exame a fresco das fezes foi de 48/70 amostras positivas para Parabasalídeos, correspondendo a 68,57% das fêmeas em reprodução, principal quadro clínico relatado foi disenteria em 31/48 (64,58%) em porcas, $p < 0,05$, e não foi relatado nenhum caso de rinite atrófica. Quanto ao resultado parasitológico 72.7% das matrizes foram positivas para pelo menos um parasito, e houve caso de co-infecção em 75% dos animais infectados. Nas matrizes, coccídios foi mais frequente (60.87%), seguido de Parabasalídea (52.17%), Strongyloidea (47.8%) and Balantidium (26.08%). Concluiu-se que os Parabasalídeos são presentes no rebanho e que desempenham um papel relevante na infecção dos animais em confinamento com ou sem o diagnóstico de desinteria.

Palavras chave: parabasalídeos, fezes, porcas, disenteria.

ABSTRACT

DA COSTA, Nelson Oscaranha Gonsales. **PARASITOLOGICAL DIAGNOSIS WITH AN APPROACH: IN PARABASALIDES IN SWINE OF FARM IN THE SOUTHERN FLUMINENSE PARAIBA VALLEY, RJ. 2019.** 45p. Dissertation (Veterinary Medicine, Animal Pathology), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

This research was carried out in the Swine Laboratory of the Federal Institute of Rio de Janeiro (IFRJ), Nilo Peçanha Campus, in the Paraíba valley microregion, southern Fluminense mesoregion, for the monitoring of Parabasalids, parasites found in swine matrices responsible for dysentery and atrophic rhinitis, despite the emphasis on technology and sanitary management of the herd studied. The objective of this work was to determine and diagnose the presence of Parabasalídeos in swine feces with and without gastrointestinal and / or respiratory symptoms, whose main route of transmission would be oral fecal. The proposed methodology was to evaluate the presence of this etiological agent in the pigs of the pigs confined in the UFRJ. For this, feces were collected from the rectal ampulla of 70 females kept at room temperature ($\pm 30^{\circ}\text{C}$), which were homogenized in buffered physiological solution (PBS) at the ratio (1:10) at the Laboratory of Reproductive Pathology of the UFRRJ, from 5.0 grams of faeces to 50 ml of PBS, kept in a bacteriological oven at $\pm 37^{\circ}\text{C}$ for 24 hours in order to identify the protozoan. The diagnosis based on the morphology was made based on the observation of fresh assembly or through swabs stained in Quick Panoptico with the aid of a binocular optical microscope and with 10 and 40X objective. Positive samples were maintained in culture for preservation of the protozoan. As far as the results of the fresh fecal examination were, 48/70 samples positive for Parabasalids, corresponding to 68.57% of the breeding females, the main clinical picture reported was dysentery in 31/48 (64.58%) in sows, $p < 0.05$, and no cases of atrophic rhinitis were reported. Regarding the parasitological result, 72.7% of the matrices were positive for at least one parasite, and there was case of co-infection in 75% of the infected animals. In the matrices, coccidiosis was more frequent (60.87%), followed by Parabasalídeos (52.17%), Strongyloidea (47.8%) and Balantidium (26.08%). It was concluded that Parabasalídeos are present in the herd and that they play a relevant role in the infection of animals in confinement with or without the diagnosis of dysentery.

Key words: parabasalids, feces, sows, dysentery.

LISTA DE ANEXOS

		Págs.
Anexo 1	Declaração de aprovação CEUA 2614120717.....	25
Anexo 2	Declaração de aprovação da CEUA/IV/UFRRJ - 006/2014	27
Anexo 3	Composição do meio de cultura Diamond.....	8
Anexo 4	Composição do meio de cultura Hank's.....	29
Anexo 5	Composição do meio de cultura Caldo Peptonado.....	30
Anexo 6	Composição do Meio CHD.....	31
Anexo 7	Composição do Meio de Cultura CH.....	32
Anexo 8	CARREIRO, C. C.; COELHO, C. D.; JORGE, J. L. B. P.; DA COSTA, N. O. G.; DO VALLE PAIVA, R.; TEIXEIRA FILHO, W. L.; DE JESUS, V. L. T. Parasitos intestinais em suínos confinados em uma criação no município de Pinheiral, RJ. <i>Brazilian Journal of Veterinary Medicine</i> , v. 38(supl. 2), p. 117-122, 2016	34

LISTAS DE ABREVIACÕES

ABIPECS- Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína

DNA- Ácido desoxirribonucleico

FAO- Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura

g- grama

HIV- Vírus da imunodeficiência humana

HPV- Papilomavírus humano

kg- Kilograma

mg- Miligrama

OMS- Organização mundial de saúde

PBS- Solução fisiológica fosfatada tamponada

PCR- Reação em cadeia de polimerase

PIB- Produto Interno Bruto

UFRRJ- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

µL- Microlitro

SUMÁRIO

	pg
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Importância Econômica da Suinocultura.....	2
2.2 Parabasalídeos.....	2
2.2.1 Parabasalídeos em suínos.....	4
2.3 Métodos de Diagnóstico.....	6
2.3.1 Microscopia direta e cultivo.....	7
2.3.2 Métodos moleculares.....	8
2.3.3 Diagnóstico Diferencial.....	9
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Local de execução.....	10
3.2 Animais.....	10
3.3 Sinais clínicos.....	11
3.4 Coleta das Fezes.....	11
3.5 Processamento das amostras.....	11
3.6 Diagnóstico parasitológico.....	11
3.7 Diagnóstico de Parabasalídeos.....	12
3.8 Meios de cultivo.....	12
3.9 Exame microscópico direto.....	12
3.10 Análise morfológica.....	13
3.11 Análise estatística.....	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1 Resultados Parasitológicos.....	14
4.2 Frequência de Parabasalídeos.....	15
4.3 Cultivo <i>in vitro</i>	15
4.4 Morfologia.....	16
4.5 Associação de Parabasalídeos x Disenteria.....	19
5 CONCLUSÕES.....	20
6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	21
7 ANEXOS.....	26

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade altamente intensiva e com isso tornam-se cada vez maiores os desafios sanitários enfrentados nos sistemas de produção. Para obter uma maior lucratividade na atividade, é de grande importância a adoção de boas práticas de produção para a realização de monitorias nutricionais, reprodutivas e sanitárias, pois com a globalização da atividade faz com que o Brasil, também, enfrente desafios sanitários presentes na suinocultura mundial.

Em suínos, *Tritrichomonas foetus* (*syn. T. suis*) é descrito no trato intestinal, podendo levar a quadros de disenterias, quando ocorre invasão da mucosa intestinal, e na cavidade nasal, sendo associados, não só à rinite atrófica como a outros distúrbios respiratórios, dentre eles bronquite e pneumonia. As enterites descritas na suinocultura, não respondem a antibioticoterapia convencional e são responsáveis por grandes perdas econômicas, sobretudo quando acometem os leitões, não só pela alta mortalidade, como também pela diminuição do ganho de peso e pelo alto custo para seu controle.

Recentemente vem sendo atribuído em suínos um quadro patogênico intestinal, associado a espécies de Parabasalídeos, onde em determinadas situações deixar de ser considerado como mero comensal da mucosa intestinal, mas um possível agente etiológico patogênico facultativo com a capacidade de invasão da mucosa intestinal.

A justificativa deste trabalho vem de encontro à necessidade de minimizar as perdas econômicas no mercado, suscitando a introdução da pesquisa de espécies de Parabasalídeos baseada em diagnóstico de rotina na suinocultura, pois a hipótese versa sobre este agente etiológico em enfermidades que interfere na esfera produtiva da espécie estudada.

Este estudo tem como objetivo diagnosticar distúrbios intestinais em porcas com o parasitismo natural de Parabasalídeos, nas fezes das matrizes suínas com base na análise morfológica. Espera-se que este trabalho possa contribuir e incentivar novas pesquisas, a fim de tornar as doenças nos suínos menos intensas e mais esclarecidas com o intuito de prevenir maiores prejuízos na criação de suínos.

2.1 Importância Econômica da Suinocultura

O Brasil é o quarto maior produtor de carne suína do mundo e o quarto maior exportador mundial, segundo o relatório da Associação Brasileira da Indústria Exportadora de Carne Suína, 2012/2013(ABIECS), com base em um rebanho de 41,1 milhões de cabeças em 2017 (IBGE, 2018). A produção nacional de 2012 chegou a 3,49 mil toneladas, crescendo mais de 2,65% comparado a 2011. O consumo aumentou de 13,4 kg, em 2010, para valores superiores a 15 kg *per capita* por ano em 2012. Neste mesmo ano exportou-se 581 mil toneladas para 60 países, gerando 1,49 bilhões de dólares de receita cambial. Esses números poderiam ser maiores se não fossem os entraves da exportação devido a problemas diversos entre eles o de origem sanitária (Doença de Aujesky, Encefalopatia Espongiforme Bovina, Gripe Aviária e febre Aftosa) levando a imposição de barreiras comerciais às exportações de carne suína brasileira (RODRIGUES et al., 2019).

2.2 Parabasalídeos

O Filo Parabasalia representa um grupo relativamente grande de flagelados, com 450 espécies descritas (ADL et al., 2007). Algumas destas são responsáveis por causar a tricomonose em diversas espécies animais (MOODLEY et al., 2002; LUN et al., 2005; RODNING et al., 2008; MELONI et al., 2011). Recentemente, estudos ultraestruturais e filogenéticos realizados em nível molecular permitiram definir uma nova organização taxonômica para este filo. De acordo com seis principais linhagens, os parabasalídeos foram organizados nas seguintes classes: Hypotrichomonadea, Cristamonadea, Trichonymphea, Spirotrichonymphea, Trichomonadea e Tritrichomonadea (CEPICKA et al., 2010). Nas duas últimas classes estão os protozoários de maior importância em saúde pública, agrupados dentro das ordens Trichomonadida e Tritrichomonadida, respectivamente

Parabasalídeos são protozoários encontrados em diversas espécies vertebradas e invertebradas, com quatro espécies, classicamente, identificadas como protozoários de humanos: *Dientamoeba fragilis*, *Pentatrichomonas hominis*, *Trichomonas vaginalis*, e *Trichomonas tenax*. As duas últimas espécies são consideradas específicas para humanos, em contraste com *D. fragilis* e *P. hominis* que já foram isoladas de animais de companhia e de produção, demonstrando a variedade de hospedeiros e o potencial

zoonótico das mesmas espécies. Diversos estudos têm destacado a dimensão zoonótica dos tricomonádídeos. Espécies, tipicamente, conhecidas por infectar aves e animais domésticos foram identificadas clinicamente em amostras de origem humana (MARITZ et al., 2014).

Historicamente, os trichomonádídeos e os tritrichomonádídeos não são considerados como infecções humanas emergentes, devido à ocorrência de especificidade local e ao hospedeiro. No entanto, a presença desses agentes etiológicos associados a uma vasta série de distúrbios clínicos pode indicar que os mesmos apresentam uma forma oportunista e, além de se multiplicar quando as condições do meio forem favoráveis. Como exemplo, esses protozoários podem ser encontrados em coinfeções respiratórias como fibrose cística e a Síndrome do desconforto respiratório agudo (SARS) em humanos (DUBOUCHER et al., 2006^a). *Pentatrichomonas hominis* foi identificado nas fezes e efusão pleural de uma mulher com lúpus eritematoso que veio a óbito (JONGWUTIWES et al., 2000). Pelo menos três espécies de Parbasalídeos, incluindo aqui *P. hominis*, *Tritrichomonas foetus*, e *Trichomonas gallinarum* foram identificados no trato respiratório humano e como agentes etiológicos causadores de tricomoníase pulmonar por Mantini et al. (2009).

A capacidade de resistência desses parasitos ao ambiente foi estudada em diversas condições. De fato, a tendência desses protozoários em se adaptarem à mucosa de uma variedade de tecidos pode ser a chave para a sua variedade de hospedeiros e a capacidade de desenvolver infecções em diferentes locais do corpo, bem como, contribuir direta ou, indiretamente, para diversas patologias. Uma vez que a capacidade para crescer na superfície das mucosas em vertebrados, pode facilitar a transmissão de uma espécie para outra. Como exemplo, tem-se *T. foetus*, onde essa espécie tem sido transmitida, sexualmente, pode representar uma recente transferência do trato digestivo para o trato urogenital, com a capacidade de desenvolver no intestino de diferentes espécies de vertebrados, entre esses suínos, gatos e cães (MARITZ et al., 2014).

Tritrichomonas Foetus, também, foi identificado em um caso de peritonite em um homem de meia-idade que vivia em uma fazenda, onde criava suínos e cavalos. Diversos protozoários foram encontrados no líquido peritoneal e identificados por biologia molecular como *T. foetus*. O paciente veio a óbito e na autópsia foi observado peritonite com exsudado intra-abdominal com abscessos perigástricos e peripancreáticos (ZALONIS et al., 2011).

Pentatrichomonas hominis, uma espécie conhecida por ser um protozoário gastrointestinal, supostamente comensal em humanos (HONINBERG, 1990), foi identificado em dois casos de diarreia. O primeiro relato em adulto e outro em uma criança, onde foram descartados quaisquer outros possíveis agentes etiológicos (MELONI et al., 2011). Até onde se sabe, *P. hominis* é encontrado no trato digestório, porém, amostras de *swab* vaginal de mulheres com quadro de vaginite e submetidas ao diagnóstico de tricomoníase por PCR o mesmo indicou a presença dessa espécie na mucosa vaginal ao invés de *Trichomonas vaginalis* (CRUCITTI et al., 2004). Casos de diarreia, envolvendo *P. hominis* são cada vez mais frequentes em animais de companhia, como cães e gatos (GOOKIN et al., 2007; TOLBERT et al., 2012) ou mesmo em animais de produção como em suínos e bovinos (HAYES et al., 2003; LI et al., 2014).

As infecções em porcas por protozoários da ordem *Trichomonadida* são comuns em Medicina Veterinária. Em suínos, foi descrito que uma variedade de tricomonadídeos habita o trato intestinal dessa espécie (RIVERA et al. 2008). Desse modo, *Tritrichomonas suis* (LUN et al., 2005), similar a *T. Foetus* (PARSONSON et al. 1976), tem sido a encontrada com maior frequência.

2.2.1 Parabasalídeos em suínos

As parasitoses, um dos mais antigos problemas de saúde presentes em todas as fases da exploração suinícola, representam um dos fatores limitantes das criações, sendo ainda pouco conhecidas e mais associadas às criações extensivas (PINTO et al., 2007). Produzem efeitos deletérios que influencia na capacidade produtiva, retardando a produção, afetando a conversão alimentar e causando perda de peso (HOFF et al., 2005).

Esses protozoários são parasitos extracelulares e durante as fases iniciais de cultivo são piriformes, com locomoção rápida e direcional. Quando se altera as características físico-químicas do meio, algumas espécies são capazes de ativar seu mecanismo de defesa (resistência), saem da forma vegetativa (trofozoíta) e assumem o formato arredondado, com os flagelos internalizados, com formação de pseudocisto, transformação morfológica do protozoário em uma forma compacta, sem motilidade, sem uma parede de cisto verdadeiro definida (BENCHIMOL, 2004).

Em 1938, foi evidenciado por Hegner e Alicata, que suínos jovens com histórico de disenteria, apresentavam sinais visíveis de problemas respiratórios como espirros, epistaxe, dispneia, tosse, além de deformação da maxila. Esse quadro clínico,

mais tarde foi relatado com evolução agressiva, onde os animais ativeram bronquite, pneumonia, encefalite, hemoptise uni ou bilateral, com índice de mortalidade entre 20% a 30% (RUTTER, 1985), com comprovação do parasitismo por *T. suis* em 80 a 90% dos suínos que morreram com a doença. Contudo, a presença de *T. suis* na cavidade nasal de suínos permitiu relacionar essa espécie ao complexo Rinite Atrófica (HEGNER, ALICATA, 1938; PINK, YAROSEVICK, 1957).

No trato intestinal de suínos, o parasitismo por parabasalídeos foi relatado em 1960, quando Hibler et al. descreveram a presença de três espécies distintas: *T. suis*, que anteriormente já havia sido descrito na cavidade nasal; *Tetratrichomonas buttreysi*, que é encontrado no rúmen e ceco de bovinos, e apesar de ter sido associado à diarreia em novilhas por Castella et al. (1997), que é considerado não patogênico para bovinos (COBO et al., 2004), e *Tritrichomonas rotunda*, que não é distinguível de *T. suis* por microscopia óptica. Além de não existir uma sequência de genes da espécie disponível, tornando duvidosa a existência definitiva dessa espécie (RIVERA et al., 2008).

Tritrichomonas suis foi identificado em suínos que apresentavam enterite necrótica e relatado recentemente como agente etiológico invasor da lâmina própria da mucosa entérica, com grande multiplicação dentro das criptas intestinais, fatores esses que seriam responsáveis pelos sinais clínicos de diarreia (MOSTEGL et al., 2011).

Kitano et al. (1991) descreveram que nas infecções por *T. suis* ocorre o espessamento da mucosa do ceco e do cólon, com epitélio coberto por numerosos nódulos de coloração esbranquiçada e tumefação dos linfonodos mesentéricos. Microscopicamente, os mesmos autores observaram que ocorre degeneração, descamação e necrose epitelial, hiperplasia das criptas e necrose da submucosa. Contudo, estabeleceram a relação desse parasito no intestino de suínos jovens com a manifestação de diarreia seguida de morte do hospedeiro vertebrado. Dentre os parabasalídeos descritos em suínos, *T. suis* tem sido o mais frequente e em virtude de sua semelhança com *T. foetus* é o mais conhecido e estudado (GUERRERO, 1977).

Em suínos, *T. foetus* (TACHEZY et al., 2002) é considerado um comensal principalmente, presente no cólon e, ocasionalmente, no intestino delgado (LUN et al., 2005). Outros Parabasalídeos descritos em porcos são *T. rotunda* (HIBLER et al., 1960) e *T. buttreysi* (RIVERA et al., 2008). No caso, de *T. rotunda* não existe mais literatura, e não há sequências genéticas dessa espécie disponíveis. Essa espécie não é distinguível a microscopia óptica de *T. Foetus* e, portanto, não pode ser considerada como uma espécie independente. *Tetratrichomonas Buttreysi*, também, foi detectado no rúmen e no

ceco de bovinos e tem demonstrado estar associado à diarreia em novilhas (CASTELLA et al., 1997).

Com referência à patogenicidade e a prevalência de Parabasalídeos intestinais, em suínos, devem ser investigadas; não são detectados apenas em amostras fecais, mas foram, diretamente, visualizados no tecido intestinal. Especialmente, a multiplicação dentro da *lumina* da cripta para grandes números e a invasão na mucosa da lâmina própria são consideradas como desencadeando mudanças no tecido e resultando em sinais clínicos e há uma associação com outros agentes enteropatogênicos, incluindo aqui *Escherichia coli*. Portanto, *T. foetus* não pode mais ser considerado como mero comensal do intestino em suínos, mas sim, como um possível agente patogênico facultativo com a capacidade de invasão da mucosa (MOSTEGL et al., 2011).

2.2.2 A presença do flagelado e o rebanho suíno no Brasil

O crescimento do rebanho de suínos no Brasil tem-se mantido, praticamente constante, enquanto o número de matrizes suínas decresceu nos últimos dez anos, ainda que, com baixos índices de produtividade e concentrado em pequenas e médias propriedades com sistemas de criação e manejo diversificados (PINTO et al. 2007).

Segundo Scheid (2008), nos últimos anos a suinocultura no Brasil, tem obtido ainda mais importância, principalmente, no mercado internacional, por algumas vantagens comparativas que tornam a atividade competitiva no cenário externo. Com um sistema produtivo baseado na integração vertical, demanda pelas agroindústrias, e com disponibilidade de insumos básicos para a produção, principalmente, de grãos essenciais como soja e milho, e investimentos em tecnologia, a produção de suínos, no Brasil, apresenta custos inferiores aos principais competidores mundiais.

2.3 Métodos de Diagnóstico

A tricomonose genital ou digestiva não tem sinais clínicos patognomônicos, portanto o diagnóstico conclusivo deve ser laboratorial (PELLEGRIN, 1997). Esse pode ser realizado principalmente através de dois métodos: o método direto e o indireto ou cultivo (SOUSA et al., 1991). Estes são considerados convencionais para o diagnóstico da tricomonose, que embora específicos, são de baixa sensibilidade, requerem muito tempo de execução e técnicos bem treinados para identificação desses agentes etiológicos. Para reduzir os efeitos de baixa sensibilidade desses métodos de

diagnóstico, têm sido desenvolvidos métodos moleculares para identificação direta de agentes causadores de enfermidades infecciosas. Entre estas técnicas, destaca-se a hibridização utilizando-se sondas moleculares e a reação em cadeia da polimerase (PCR), que possibilitam um diagnóstico preciso e seguro (MORGAN; THOMPSON, 1998; NICKEL et al., 2002).

2.3.1 Microscopia direta e cultivo

A identificação microscópica está baseada na morfologia e motilidade característica do parasito (CAMPERO et al., 2003). Para o exame direto, a amostra recém colhida é montada em lâmina de microscopia e observada em objetiva de 40 vezes. Este parasito não pode ser detectado em análises fecais de rotina, como centrifugação e flutuação, e os trofozoítas não sobrevivem à refrigeração (GUNN-MOORE et al., 2007; DOS SANTOS et al., 2015).

No entanto, este método é menos sensível que o cultivo, pois a quantidade de parasita é relativamente baixa quando comparada à cultura o que pode induzir a resultados falso negativos, portanto a cultura é o principal método de isolamento e identificação dos microrganismos (SOUSA et al., 1991), mas que deve ser usado com apoio da biologia molecular para garantir um diagnóstico mais preciso, visto a semelhança morfológica entre as espécies e a possibilidade de infecção de diferentes protozoários em diferentes hospedeiro.

Existe uma gama de meios de culturas destinado ao isolamento desses protozoários, um das problemáticas do cultivo envolve a adaptação do parasita ao meio, Amin et al. (2010) relataram por exemplo que *T. vaginalis* e *T. galinarum* apresentam diferenças no padrão de cultivo quando foram utilizados diferentes meios, e que há diferenças no padrão de isolamento, quando são comparadas diferentes cepas da mesma espécie mas poucos estudos sobre o isolamento desses organismos foram realizados.

Para a detecção do protozoário em amostras geniturinárias, o material coletado deve ser inoculado e transportado em meio de transporte e enriquecimento Diamond (DIAMOND, 1957) modificado, enriquecido com 10% de soro fetal bovino e mescla de antibióticos (penicilina, estreptomicina e anfotericina B). Já as amostras fecais, podem ser transportadas a fresco ou em PBS. No entanto, todas as amostras procedentes de casos clínicos devem ser transportadas à temperatura ambiente, protegido da luz e o mais rápido possível ao laboratório, pois o diagnóstico dependente da viabilidade do

microrganismo. Então estas são incubadas a 37°C por 7 a 10 dias, com observação diária do crescimento em microscopia de contraste de fase. A presença de protozoários móveis, de morfologia piriforme confere positividade ao material, a presença de flagelos anteriores e um flagelo posterior devem ser confirmados pelos métodos de coloração (APPEL et al., 1993).

O diagnóstico por cultivo pode apresentar dificuldades quando às amostras a serem analisadas estiverem contaminadas, quando a quantidade de parasitos da amostra for pequena ou pela presença de parasitos inviáveis, resultando em falsos negativos. Outro desafio do cultivo é diagnosticar com precisão a espécie envolvida no parasitismo, já que a semelhança entre algumas espécies é muito grande. O que torna as análises moleculares ferramentas indispensáveis.

2.3.2 Métodos moleculares

Com os recentes avanços na área de biologia molecular está sendo possível reduzir os efeitos de baixa sensibilidade dos métodos de diagnósticos convencionais, através do desenvolvimento de métodos cada vez mais eficiente para identificação direta de agentes causadores desta enfermidade. Alguns autores afirmam que estes métodos podem ser utilizados com eficácia para o diagnóstico complementar à cultura ou até mesmo como diagnóstico primário e único de infecção (RILEY et al., 1995). No entanto, alguns trabalhos demonstraram que as técnicas de PCR não podem substituir por definitivo à cultura, e que uma técnica não exclui a outra (GOOKIN et al., 2002; 2004). Estudos baseados na comparação entre o cultivo e a as técnicas moleculares são escassos e apresentam resultados controversos, que dependem do material biológico na qual é feita a extração do DNA. Por exemplo, Cobo et al. (2007) assinalaram taxas de positividade bem semelhantes entre as técnicas, 67,8% na cultura e 65,9% na PCR, sua amostra clínica para a extração de DNA foi o lavado prepucial, teoricamente menos contaminado que as amostras fecais descritas por Gookin et al. (2002) cujas diferenças entre positividade das técnicas foram significativas, 55% na cultura e 39% na PCR.

2.3.3 Diagnóstico Diferencial

As parasitoses são uns dos mais antigos problemas de saúde suinícola, e está presente em todas as fases de exploração produzindo efeitos deletérios influentes na capacidade produtiva dos rebanhos. Dentre os parasitos descritos, os mais comuns são *Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Strongyloides ransomi*, *Balantioides coli* (syn.. *Balantidium coli*) (BARBOSA et al., 2018) e *Cryptosporidium* spp. (AGUIAR, 2009). Os animais mais acometidos são os suínos jovens de seis semanas a seis meses, nos quais a ação parasitária é mais evidente e danosa. Causando importantes perdas econômicas, tanto pelo aumento na taxa de mortalidade dos leitões, como pela redução do ganho de peso, conversão alimentar inadequada e gastos com medicamentos. Os animais adultos também são acometidos, mas geralmente são portadores e apresentam a forma subclínica, fato que favorece a disseminação dos parasitas, ao contaminar o ambiente, água e alimento (TOMA et al., 2003).

Os distúrbios gastrointestinais são frequentemente observados em suínos em diferentes faixas etárias. Sendo responsáveis por importantes perdas econômicas, não só pela taxa de mortalidade dos leitões, como pela redução do ganho de peso e gastos com medicamentos. Além disso, em matrizes está associado à redução da fertilidade e repetições irregulares de cio.

Apesar do grande desenvolvimento da suinocultura intensiva, pouco se sabe acerca da ocorrência e frequência de parasitos intestinais nesta população animal, sobretudo no sudeste do país. Os estudos existentes no país são insuficientes para estabelecer um melhor controle e prevenção das infecções, já que há muitas diferenças no manejo e nas instalações de cada região.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de execução

O presente trabalho foi realizado segundo os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRRJ sob o número de protocolo nº CEUA/IV/UFRRJ 2614120717 (Anexo 1).

3.2 Animais

Os animais utilizados no presente estudo pertencem ao Laboratório de Suinocultura do Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ), localizada no município de Pinheiral, situado no sul do estado do Rio de Janeiro, no Vale do Paraíba Fluminense. Localiza-se a uma latitude 22°30'46" sul e a uma longitude 44°00'02" oeste.

Foram avaliadas ao longo dos anos desde 2008 a 20017, matrizes em reprodução, da linhagem Ultra-light, contabilizando em torno de 70 fêmeas, dos quais, 25 fêmeas se encontram no Laboratório de Suinocultura do IFRJ. Os animais foram criados no sistema de confinamento, e se reproduzem através de monta natural, onde as fêmeas são levadas até o macho. Todos os parâmetros reprodutivos são rigorosamente monitorados e registrados no sistema Agrines Software de controle da suinocultura.

As matrizes são vermifugadas 15 dias antes do parto, evitando infecção dos leitões, e vacinadas contra *Clostridium perfringens* cepas C e D e cepas de *Escherichia coli* (Litterguard) e contra erisipela, leptospirose e parvovirose suína (FarroWsure). Os leitões são vacinados contra circovirose (PCV tipo 2, CIRCOVAC) e micoplasmose (SPRINTVAC). Os leitões do rebanho em questão apresentavam episódios frequentes de diarreia, com fezes de consistência que variava desde pastosa a aquosa e com coloração escura, que não respondem à antibioticoterapia convencional. Durante os quadros de disenteria o animal apresentava tenesmo, prostração, com tendência a se isolar dos outros animais, magreza e perda de apetite. Já as matrizes apresentavam histórico de repetição de cio, natimorto e nascimento de crias fracas.

Para a realização deste trabalho, foram coletadas amostras do trato intestinal das matrizes, para estabelecer a frequência de Parabasalídeos do plantel.

3.3 Sinais clínicos

Apesar de todo o manejo sanitário do rebanho em questão, os leitões apresentavam episódios frequentes de diarreia, com fezes de consistência que variava desde pastosa a aquosa e com coloração escura, que não respondem ao tratamento convencional. Durante os quadros de disenteria o animal apresentava tenesmo, prostração, com tendência a se isolar dos outros animais, magreza e perda de apetite

3.4 Coleta das Fezes

Foram coletadas as amostras fecais de todas as matrizes em reprodução da granja, estes foram contidos, individualmente, em estação. As fezes dos animais adultos foram coletadas após estímulo das ampolas retais (dático estímulo), após a evacuação, recolhidas com as mãos calçadas de luvas cirúrgicas, sem que estas entrem em contato com o chão. A amostra de cada animal foi armazenada individualmente a fresco, sob temperatura ambiente até ser transportada para o Laboratório de Patologia da Reprodução da UFRRJ.

3.5 Processamento das amostras

As amostras de cada animal foram identificadas com a numeração ou nome correspondente ao animal e armazenadas individualmente a fresco, em temperatura ambiente (cerca de 25 a 28 °C) até serem transportadas para o Laboratório de Patologia da Reprodução, localizado no Anexo I do Instituto de Veterinária da UFRRJ. No laboratório, as fezes coletadas foram codificadas com a inicial da espécie e o número da amostra. Após a codificação, parte das amostras foram destinadas ao diagnóstico de parabasalídeos.

3.6 Diagnóstico parasitológico

As amostras fecais foram coletadas imediatamente após defecação espontânea dos animais, acondicionadas em recipientes plásticos estéreis e transportadas para o Laboratório de Patologia da Reprodução. No laboratório, uma parte das amostras fecais foram adicionadas de salina tamponada (PBS), homogêneas e examinadas entre lâmina e lamínula à fresco, sob microscopia óptica, no aumento de 10 X, para a pesquisa de parabasalídeos e *Balantidium* sp. As amostras fecais foi submetida ao método de centrifugo-flutuação em açúcar (OSLANIA et al. 2005), para a pesquisa dos demais parasitos (helmintos e coccídios).

3.7 Diagnóstico de Parabasalídeos

Cinco gramas de fezes foram homogeneizados em 50 mL de PBS, logo foi realizado o primeiro exame direto a fresco por microscopia óptica; colocando-se uma gota do material sobre uma lâmina e lamínula, para observação em objetiva de 10X. A visualização de pelo menos um parasito vivo com os movimentos abruptos característicos confere positividade ao material. Após o primeiro exame a fresco, todas as amostras já diluídas em PBS, foram mantidas em estufas a 34°C até novos exames de microscopia óptica, que foram realizados a cada 24 horas, durante sete dias. As amostras consideradas positivas foram inoculadas em meios de enriquecimento.

3.8 Meios de cultivo

Para o isolamento dos protozoários, os meios de cultura Hanks (HANKS; WALLACE, 1949), Diamond (DIAMOND, 1957), Caldo Peptonado e 199, que já foi por Amin et al. (2010) foram previamente preparados assepticamente no setor de meios de cultivo do Laboratório de Patologia da Reprodução e mantidos em geladeira com a temperatura de $\pm 5^{\circ}\text{C}$. Esses meios só foram retirados da geladeira 30 minutos antes de serem utilizados para a inoculação dos protozoários.

3.9 Exame microscópico direto

No laboratório, as fezes coletadas foram pesadas, e 5,0 gramas homogeneizados em 50 ml de PBS; foi feito o primeiro exame por microscopia óptica direta a fresco, colocando-se uma gota do meio sobre uma lâmina e lamínula, para observação em objetiva de 10X. A visualização de pelo menos um parasito vivo com os movimentos abruptos característicos confere positividade ao material. Em seguida as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente (25 a 28 °C) sendo reexaminadas a cada 24 horas.

As amostras positivas foram inoculadas em meios de cultura seletivos Hank's (cultura Mãe) e examinadas por até 10 dias, iniciando-se a triagem das culturas geralmente após 24 horas. As culturas onde houver a multiplicação dos protozoários, uma alíquota de 1 mL transferida para novos frascos contendo 5,0 mL dos meios de manutenção Diamond, Caldo Peptonado, 199. As culturas então foram mantidas por repiques para meio novo a cada 48 horas, após serem avaliadas em microscopia óptica, em objetiva de 10X para detecção de trofozoítas móveis. As culturas negativas foram

mantidas por pelo menos 10 dias sem repiques e reavaliadas a cada dois dias. Se confirmado o resultado negativo após esse período, elas foram devidamente descartadas.

3.10 Análise morfológica

O exame morfológico foi realizado com 1 mL de cultura positiva centrifugada a 3000 g, por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet homogeneizado, onde foi retirado uma alíquota de 10 μ L e colocada em lâmina para a preparação de esfregaços secos ao ar. Após a secagem as lâminas serão fixadas em etanol absoluto por 30 minutos e coradas pelo método do Panótico rápido® (Primo star iLEDZeiss®). A identificação morfológica foi realizada em microscopia óptica em objetiva de 40 e 100 vezes.

3.11 Análise Estatística

Para verificar a associação entre as variáveis estudadas (isolamento Parabasalídeos e disenterias), foram utilizados os testes do Qui-quadrado (χ^2) e o Teste exacto de Fisher, quando recomendado (SAMPALHO, 2002), com resultado significativo $p < 0,05$.

4.1 Resultados Parasitológicos

De um total de 70 amostras fecais examinadas, 55 (68,57%) apresentavam-se positivas para pelo menos um parasito e apenas 15 matrizes (27,3%), encontravam-se negativos para todos os agentes pesquisados. A coinfeção foi bastante significativa, onde a maioria dos animais (75%) estavam parasitados por mais de um agente. A frequência encontrada nas fêmeas examinadas foi de 60,87% espécies do gênero *Eimeria*; 72,7% de Parabasalídeos; 47,8% Strongylida; 26,08% *B. coli*; 1,8% *Ascaris suum* e 4,34% *Trichuris suis*.

Esse resultado foi semelhante ao relatado por Aguiar em 2009 (75%). Nishi et al. (2000) fez um estudo semelhante em Minas Gerais e em São Paulo, descrevendo taxas de infecções bem menores (38,6 % e 39,7% respectivamente), o que possivelmente está relacionado às diferenças de manejo e instalações (D'ALENCAR et al., 2011). No entanto, a taxa de positividade relatada nesse presente estudo (72,7%) foi semelhante aos dados apresentados por Pinto et al. (2007), o qual verificou 70% de positividade. Outros levantamentos realizados em condições de semelhante precariedade descreveram taxas de infecção acima de 90% (AGUIAR 2009, LODDI et al. 2015), e é importante ressaltar que as diferenças regionais também devem ser levadas em consideração.

A ocorrência de *Ascaris suum* neste rebanho foi de 1,8%, semelhante a valores encontrado em por outros autores em diferentes regiões (HOFF et al., 2005), no entanto foi relativamente menor que o descrito em rebanhos de criação extensiva (Pinto et al. 2007). No estado de Santa Catarina, Hoff et al. (2005) relataram taxa de infecções para *Trichuris suis* (0,5%) e para ordem Strongylida (21,5%), semelhantes a descrita nesse estudo, de 1,8% e 23,63% respectivamente. Como consequência destes parasitismos, os animais infectados podem apresentar diarreia, má absorção dos nutrientes e desidratação, acarretando em atraso no desenvolvimento, podendo causar morte principalmente quando coparasitados (MONTEIRO, 2014).

A taxa de infecção por *B. coli* (18,18%) descrita neste estudo foi semelhante àquela descrita por Nishi et al. (2000), em São Paulo (18,7%), e foram bem menores quando comparadas aos dados de Pinto et al. (2007) e Brito et al. (2012), onde relataram uma ocorrência igual a 46% e 78% respectivamente.

4.2 Frequência de Parabasalídeos

No primeiro exame de microscopia óptica, realizado cerca de duas horas após a coleta do material, em nenhuma das 70 amostras de matrizes (diluídas em PBS), foi possível a visualização do protozoário na forma trofozoíta, ou seja, com movimento progressivo e característico de Parabasalídeos. Foi necessário um tempo mínimo de 48 horas de repouso, em temperatura ambiente ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$), para o protozoário retornar à forma vegetativa e começar a se locomover. Das 70 amostras analisadas foi possível a visualização do flagelado em 48 amostras ao exame de microscopia óptica, ou seja, 68,57% das matrizes foram positivas. Nas outras 22 amostras (31,42%), não houve a visualização do mesmo.

A alta prevalência de Parabasalídeos encontrada no estudo, 68,57%, é muito semelhante à descrita por Cacciò et al. (2012) onde 52 de 74 leitões examinados encontravam-se positivos, cerca de 70,27% e a Pakandl em 1994, no qual foram examinadas 842 matrizes, sendo 77,0% positivas. Mostegl et al. (2011) relataram uma prevalência relativamente menor, aproximadamente 52,1%, o que pode ser justificado pelas diferentes técnicas empregadas, Cacciò et al. (2012) e Pakandl (1994) analisaram amostras fecais, assim como no presente estudo, enquanto que Mostegl et al. (2011) empregaram a técnica de hibridização cromogênica *in situ*, que utiliza fragmentos de tecido epitelial para a detecção do parasita; essa técnica só é capaz de identificar os protozoários que penetram no epitélio.

Além disso, em animais com baixa carga parasitaria poderia ter sido coletado uma porção do epitélio intestinal na qual não há o parasitismo, não sendo representativo para todo o trato intestinal, o que possibilitou a menor prevalência relatada por Mostegl et al (2011).

4.3 Cultivo *in vitro*

Todas as amostras de fezes positivas em que houve a visualização do flagelado se mantiveram positivas em meio de cultura Hanks (cultura mãe). Porém algumas cepas isoladas nesse primeiro meio de cultura não resistiram à limpeza do meio, ou seja, não foi possível repica-las para meios novos (limpos). Essas culturas não se adaptaram a nenhum dos meios usados (Hanks, Caldo Peptonado, Diamond, CHD, CH) se a concentração de fezes no meio não fosse alta. E por isso não foram analisadas morfológicamente e nem identificadas por PCR.

Dos meios usados, Diamond, referência para o isolamento de *T. foetus* (DIAMOND, 1957), foi o único que não permitiu o desenvolvimento do protozoário em nenhuma das amostras avaliadas; as culturas ficaram contaminadas com bactérias e dificilmente foi possível visualizar os trofozoítas, e quando visualizados, sua multiplicação era lenta, a cultura não foi capaz de se manter, e em menos de 48 horas não havia mais motilidade do protozoário. Certamente, algumas espécies de bactérias favorecidas pelo meio de cultura, ao se desenvolverem prejudicaram os protozoários, consumindo os nutrientes ou mesmo mudando características físico-químicas que impediram o desenvolvimento dos parabasalídeos.

Em cultura, os trofozoítas apresentavam movimentação progressiva e irregular, característica desses parasitas. Apresentando-se como uma estrutura ovoide ou piriforme, sendo a maioria deles de formato arredondado. A multiplicação celular variou entre cepas, enquanto algumas se multiplicavam rapidamente, necessitando de repiques a cada 48 horas, outras foram muito lentas, sendo necessário aguardar mais de 72 horas para haver sucesso no repique. Considera-se que essas diferenças, quando ao desenvolvimento sejam relativas ao metabolismo energético, que varia de espécie para espécie, e também seja inerente a composição físico-química de cada amostra.

As culturas se desenvolveram bem à temperatura de $34\pm 3^{\circ}\text{C}$, e ficaram ainda melhores quando colocadas em microaerofilia, através da utilização de vaselina líquida, apresentaram crescimento maior e com menor contaminação bacteriana e fúngica quando comparado às mesmas cepas isoladas em meios de cultura sem a vaselina. Entretanto, todas as culturas mantiveram contaminação por bactérias, que foram resistentes a vários antibióticos. Não foi possível a axenização de nenhuma cultura analisada. Sempre que se eliminavam as bactérias do meio, as culturas não resistiam.

4.4 Morfologia

O método de coloração priorizado por esse estudo, Panótico rápido®, para a identificação morfológica por microscopia óptica, não permitiu a visualização de estruturas importantes para a identificação de gênero e espécie, como o número exato de flagelos, o número de ondas da membrana ondulante e o formato do axóstilo. Adicionalmente, a presença e as características das várias organelas tais como os hidrogenossomas, também não foram observados. Todavia, organismos de tamanho variados em uma mesma cultura foram claramente visíveis, possivelmente por estarem

em fases distintas do seu metabolismo, sendo frequente a observação de células em processo mitótico, com dois núcleos.

As células dos protozoários apresentaram formato que variava de arredondada a piriformes (Figura 1), flagelo posterior livre, flagelos anteriores, uma membrana ondulante, axóstilo de tamanho variado, um núcleo sempre na porção anterior da célula.

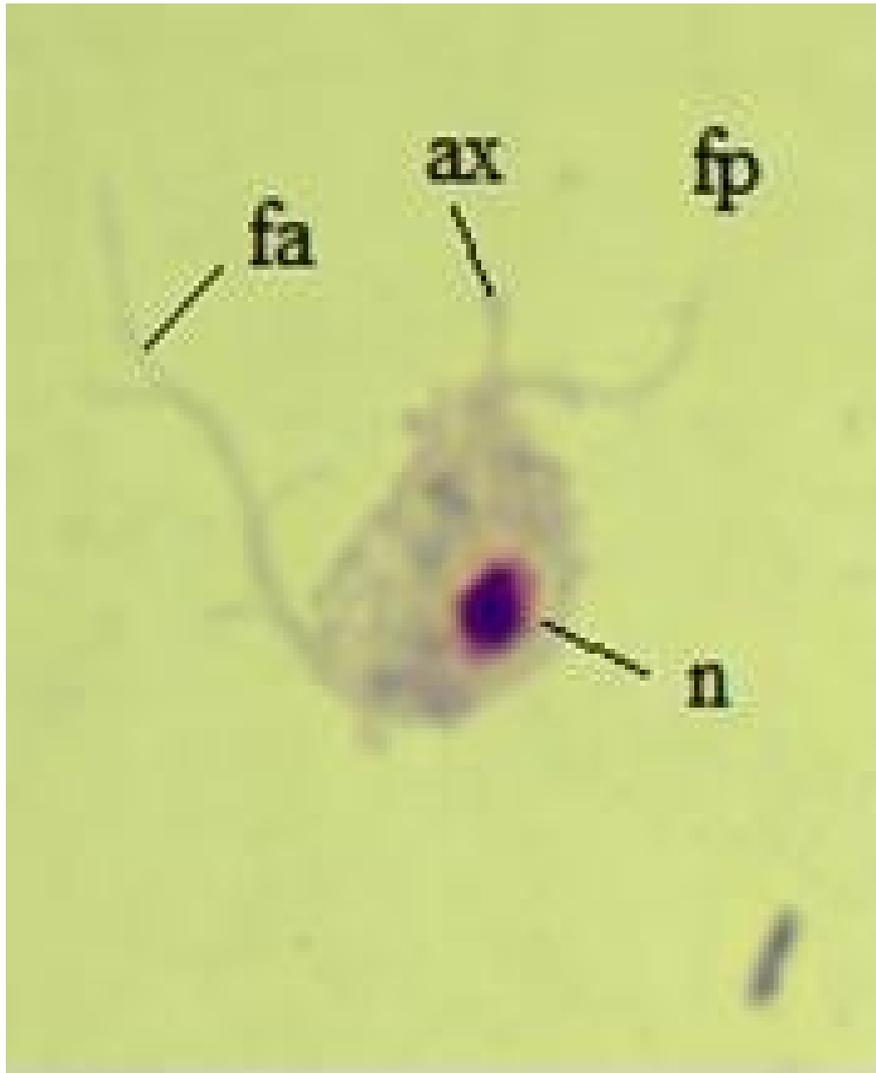


Figura 1. Morfologia dos Parabasalídeos coradas pelo método Panótico rápido®, observados por microscopia óptica em objetiva de 100 (ax: axóstilo; fa: flagelo anterior; fp: flagelo posterior; n: núcleo).

Além disso, vacúolos foram vistos por todo o citoplasma. As bactérias foram frequentemente encontradas dentro das vesículas e próximas à superfície das células da maioria dos protozoários examinados (Figura 2).



Figura 2. Morfologia dos Parabasalídeos, coradas pelo método Panótico rápido®, observados por microscopia óptica em objetiva de 100 (n: núcleo e v: vacúolos).

O grande número de vesículas foi semelhante aos encontrados em *T. foetus* (BENCHIMOL et al., 1986. De acordo com Cobo et al. (2003), estes tipos de vesículas podem ser vacúolos endocíticos, como resultado de fagocitose de bactérias, assim como outras partículas sólidas. Portanto, esses parabasalídeos são capazes de realizar atividade fagocitária, internalizar e posteriormente degradar bactérias. Em vivo essa

relação com bactérias é relatada como fator agravante nos distúrbios intestinais (LI, W et al., 2014).

A microscopia óptica é um excelente método para a descrição da morfologia desses flagelados, porém, diante da complexidade morfológica e do grau de semelhança entre as espécies, não deve ser o único método de diagnóstico, pois não fornece parâmetros suficientes para se fazer a diferenciação das espécies, o que justifica o fato da análise molecular ser priorizada por muitos autores (HAYES et al., 2003; TACHEZY et al., 2002; LI, W et al 2014; LI, W-C et al., 2014).

4.5 Associação de Parabasalídeos x Disenteria

A principal manifestação clínica dos Parabasalídeos nos suínos nesta granja, foi de disenteria, em 31/48 (64,6%) positivas e 17/48 (35,4%) negativos, sendo infecção significativa no plantel ($p < 0,05$), mesmo relatado por Mostegl et al. (2011), mas com presença de outras parasitoses, demonstrando evidências da necessidade de um controle parasitológico eficaz.

Levando em consideração que os suínos são hospedeiros de agentes parasitários que causam infecções importantes no homem, como por exemplo: *Balantidioides coli*, parabasalídeos e coccídios (*Cryptosporidium* spp. e *Sarcocystis* spp.), esta espécie animal pode ser considerada um importante disseminador dessas parasitoses, não só para suinocultores de forma direta, mas também para a população de uma forma geral, uma vez que no Brasil não há uma correta destinação dos resíduos orgânicos (fezes) desses animais.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados aqui apresentados se pode concluir que:

1 - Os Parabasalídeos são incidentes no rebanho e desempenham papel relevante, na disenteria observada no rebanho estudado;

2 - Apesar de não se conseguir um meio permanente de cultura *in vitro* para o referido Parabasalídeos se pode afirmar que no método de isolamento microaerófilo em relação ao meio anaeróbio estudado, eles desenvolveram melhor, e as características morfológicas foram evidenciadas pelo *Panóptico Rápido*.

3 - Independente dos flagelados estudados não se pode relevar a presença de outros enteropatógenos constituídos por *Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Balantidium coli* e espécies do gênero *Eimeria*.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AMIN, A.; NEUBAUER, C.; LIEBHART, D.; GRABENSTEINER, E.; HESS, M.
Axenization and optimization of in vitro growth of clonal cultures of
Tetratrichomonas gallinarum and *Trichomonas gallinae*. *Experimental
Parasitology*, v.124, p.202-208, 2010.
- APPEL, L.; MICKELSEN W. D.; THOMAS, M. H.; HARMON, W. M. A comparison
of techniques used for the diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infections in beef
bulls. *Agri-practice*, v.14, p. 30-34, 1993.
- BENCHIMOL, M. Trichomonads under microscopy. *Microscopy and Microanalysis*,
v.10, p.528–550, 2004.
- CAMPERO, C. M.; RODRIGUEZ DUBRA, C.; BOLONDI, A.; CACCIATO, C.;
COBO, E.; PEREZ, S.; ODEON, A.; CIPOLLA, A.; BONDURANT, R. H. Two-
step (culture and PCR) diagnostic approach for differentiation of non-*T. foetus*
trichomonads from genitalia of virgin beef bulls in Argentina. *Veterinary
Parasitology*, v. 112, p. 167-175, 2003
- CASTELLA, J.; MUNOZ, E.; FERRER, D.; GUTIERREZ, J. Isolation of the
trichomonads *Tetratrichomonas buttrei* (Hibler et al., 1960) Honigberg, 1963 in
bovine diarrhoeic faeces. *Veterinary Parasitology*, v. 70, p. 41-45, 1997.
- CEPICKA, I.; HAMPLB, V.; KULDAB, J. Taxonomic Revision of Parabasalids with
description of one New Genus and three New Species. *Protist*, v.161, p.400-433,
2010
- COBO, E. R.; CANTON, G.; MORRELL, E.; CANO, D.; CAMPERO, C. M. Failure to
establish infection with *Tetratrichomonas* sp. in the reproductive tracts of heifers
and bulls. *Veterinary Parasitology*, v.120, 145–150, 2004
- CRUCITTI, T.; ADELLATI, S.; ROSS, D. A.; CHANGALUCHA, J.; DYCK, E.;
BUVE, A. Detection of *Pentatrichomonas hominis* DNA in biological specimens
by PCR. *Letters in Applied Microbiology*, v.38, p.510-516, 2004.
- DA SILVA BARBOSA, A.; BARBOSA, H. S.; DE OLIVEIRA SOUZA, S. M.; DIB, L.
V.; UCHÔA, C. M. A.; BASTOS, O. M. P.; AMENDOEIRA, M. R. R.
Balantioides
coli: morphological and ultrastructural characteristics of pig and non-human
primate isolates. *Acta Parasitologica*, v. 63, p. 287-298, 2018.
- DIAMOND, L. S. The establishment of various trichomonads of animals and man in
axenic cultures. *Journal of Parasitology*. v. 43, p. 488-490, 1957

- DOS SANTOS, C. S. *Parabasalídeos de animais domésticos: morfologia diagnóstico e algumas considerações epidemiológicas*, RJ: Tese Mestrado, UFRRJ, p.150, 2016.
- DUBOUCHER, C., Caby, S., Pierce, R.J., Capron, M., Dei-Cas, E., Viscogliosi, E., *Trichomonads* como agentes superinfecciosos na pneumonia por *Pneumocystis* e síndrome do desconforto respiratório agudo. *Journal Eukaryotic Microbiology*, v 53, p.95-97, 2006
- DU PONT, P., MASSERET, E., GOUSTILLE, J., CAPRON, M., DUBOUCHER, C., DEI-CAS, E., VISCOGLIOSI, E. MANTINI, C., SOUPPART, L., NOEL, C., DUONG, TH, MORNET, M., CARROGER, G., Caracterização molecular de uma nova espécie de *Tetratrichomonas* em um paciente com empiema. *Journal Clinic Microbiology*, v. 47, p. 2336–2339, 2009.
- GOOKIN, J. L.; BIRKENHEUER, A. J.; St JOHN, V.; SPECTOR, M.; LEVY, M. G. Molecular characterization of trichomonads from feces of dogs with diarrhea. *Journal of Parasitology*, v.91, p.939-943, 2005.
- GOOKIN, J. L.; LEVY, M. G.; MAC LAW, J.; PAPICH, M. G.; POORE, M. F.; BREITSCHWERDT, E. B. Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *American Journal of Veterinary Research*. v.62, p.1690-1697, 2001.
- GOOKIN, J. L.; STAUFFER, S. H.; COCCARO, M. R.; MARCOTTE, M. J.; LEVY, M. G. Optimization of a species-specific polymerase chain reaction assay for identification of *Pentatrichomonas hominis* in canine fecal specimens. *American Journal of Veterinary Research*, v.68, p.783-787, 2007.
- GOOKIN, J.L.; BREITSCHWERDT, E.B.; LEVY, M.G.; GAGER, R.B.; BENRUD, J.G.; Diarrhea associated with trichomonosis in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 215, p. 1450–1454, 1999
- HALE, S.; NORRIS, J. M.; S̃ LAPETA, J. Prolonged resilience of *Tritrichomonas foetus* in cat faeces at ambient temperature. *Veterinary Parasitology*. v.166, p.60-65, 2009.
- HAMPL, V.; VRLĨ IK, M.; CEPICKA, I.; PECKA, Z.; KULDA, J.; TACHEZY, J. Affiliation of *Cochlosoma* to trichomonads confirmed by phylogenetic analysis of the small-subunit RNA gene and a new family concept of the order Trichomonadida. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*. v. 56, p. 305-312, 2006

- HANKS, J. H.; WALLACE, R. E. Relation of oxygen and temperature in the preservation of tissue by refrigeration. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, v. 71, p.196-200, 1949.
- HAYES, D. C.; ANDERSON, R. R.; WALKER, R. L. Identification of trichomonadid protozoa from the bovine preputial cavity by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism typing. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 15, p. 390-394, 2003.
- HEGNER, R.; ALICATA, J. E. Trichomonad flagellates in facial lesion of a pig. *Journal of Parasitology*, v. 24, p.554, 1938
- HIBLER, C.H.; HAMMOND, D.M.; CASKEY, F.H.; JOHNSON, A.E.; FITZGERALD, P.R. The morphology and incidence of the trichomonads of swine, *Tritrichomonas suis* (Gruby & Delafond), *Tritrichomonas rotunda*, n. sp. and *Trichomonas buttreysi*, n.sp. *Journal of Protozoology*, v.7, p. 159-171, 1960.
- HONIGBERG, B.M. Trichomonad found outside the urogenital tract of humans. In: HONIGBERG, B.M. *Trichomonads Parasitic in Humans*. New York: Springer-Verlag., p. 342-393, 1990.
- JONGWUTIWES, S.; SILACHAMROON, U.; PUTAPORNTIP, C. *Pentatrichomonas hominis* in empyema thoracis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine*, v.94, p.185-186, 2000
- KIM, J.; JUNG, K.; CHAE, C. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. *Veterinary Record*, v. 155, p. 489-492, 2004.
- KITANO, Y.; MAKINODA, K.; FURUKAWA, M.; TOYOMITSU, Y.; FUKUYAMA, T.; HIGASHIMA KAWA, M.; YONEMARU, M.; TOBIMATSU, M. Diarrhoea in piglets associated with trichomonad parasitism. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, v.44, p.473-77, 1991
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR., W.C. 2008. *Diagnóstico Microbiológico*. 5ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1465p.,2008.
- LI, W., LI, W., GONG, P., MENG, Y., LI, W., ZHANG, C., LI, S., YANG, J., LI, H., ZHANG, X, LI, J. Identificação molecular e morfológica de *Pentatrichomonas hominis* em suínos. *Veterinary Parasitology*, v. 202, p.241-247, 2014.
- LÓPEZ, L. B.; BRAGA, M. B. M.; LÓPEZ, J. O.; ARROYO, R.; FILHO, F. C. S. Strategies by which some Pathogenic Trichomonads integrate Diverse Signals in

- the Decision-making Process. *Anais da Academia Brasileira de Ciência*. v. 72, p. 173-186. 2000.
- LUN, Z.- R., CHEN, X.-G., ZHU, X.-Q., LI, X.-R., XIE, M.Q. Are *Tritrichomonas foetus* and *Tritrichomonas suis* synonyms? *Trends Parasitology*, v. 21, p.122-125, 2005.
- MARITZ, J.M., LAND, K. M., CARLTON, J.M., HIRT, R.P. Qual é a importância dos trichomonas zoonóticos para a saúde humana? *Tendências Parasitológicas*, v.30, p. 333-341, 2014.
- MELONI, D.; MANTINI, C.; GOUSTILLE, J.; DESOUBEAUX, G.; MAAKAROUNVERMESSE, Z.; CHANDENIER, J.; GANTOIS, N.; DUBOCHER, C.; FIORI, P. L.; DEI-CAS E.; DUONG, T. H.; VISCOGLIOSI E. Molecular identification of *Pentatrichomonas hominis* in two patients with gastrointestinal symptoms. *Journal of Clinical Pathology*, v.64, p.933-935, 2011,
- MORGAN, U. M.; THOMPSON, R. C. A. Molecular detection of parasitic protozoa. *Parasitology*, v. 117, p. S73-S85, 1998
- MOSTEGL, B., MEIKE, M., RICHTER, N., NEDOROST, A., MADERNER, N., DINHOPL, H. Investigations on the prevalence and potential pathogenicity of intestinal trichomonads in pigs using in situ hybridization. *Veterinary Parasitology*, v. 178, p.58-63, 2011.
- OSLANIA F.A., GOMES A.G. & SILVA A.C. Ocorrência de enteroparasitos em cães e gatos do município de Goiânia, Goiás: comparação de técnicas de diagnóstico. *Ciência Animal Brasileira*, v.6, p.127-133, 2005.
- PARSONSON, I.M., CLARK, B.L., DUFTY, J.H. Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. *Journal Comparative Pathology*, v. 86, p. 59-66, 1976.
- PELLEGRIN, A. O. Tricomonose bovina (Bovine trichomoniasis). In: ANAIS DO II SIMPÓSIO PFIZER SOBRE DOENÇAS INFECCIOSAS E VACINAS PARA BOVINOS, 1997, Caxambu. Anais... Caxambu, 1997. p. 60-65
- PINK, A. N.; YAROSEVICH, G. A. Outbreak of porcine rhinitis caused by thichomonads. *Veterinary*. v. 34, p. 27-29, 1957
- PINTO, J. M.S; COSTA, J.O; SOUZA, J.C. Ocorrência de endoparasitas em suínos criados em Itabuna, Bahia. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, v.10, p. 79-85, 2007.

- RILEY, D. E.; WAGNER, B.; POLLEY, L.; KRIEGER, J. N. PCR-based study of conserved and variable DNA sequences of *Tritrichomonas foetus* isolates from Saskatchewan, Canadá. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, p. 1308-1313, 1995.
- RIVERA, W.L., LUPISAN, A.J.B., BAKING, J.M.P. Ultrastructural study of a tetratrachomonad isolated from pig fecal samples. *Parasitology Research*, v. 103, p. 1311-1316, 2008.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2000, 221p.
- SCHEID, R. I. *Diagnóstico clínico-patológico de falhas reprodutivas na suinocultura. Memórias del IX Congreso Nacional de Producción Porcina*, Argentina, 197p., 2008.
- SOUSA, S. T. B.; FERNANDES, J. C. T.; SILVA, C. E.; GOMES, M. J. P. Métodos para colheita de *Tritrichomonas foetus* em fêmeas e machos bovinos. *Arquivo da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v.19, p. 125-132, 1991
- TACHEZY, J., TACHEZY, R., HAMPL, V., ŠEDINOVÁ, M., VANAÁCOVÁ, S., VRLÍK, M., VAN RANST, M., FLEGR, J., KULDA, J. Cattle pathogen *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller, 1928) and pig comensal *Tritrichomonas suis* (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species. *Journal Eukaryotic Microbiology*, v. 49, p.154-163, 2002.
- TOLBERT, M. K.; LEUTENEGGER, C. M.; LOBETTI, R.; BIRRELL, J.; GOOKIN, J. L. Species identification of trichomonads and associated coinfections in dogs with diarrhea and suspected trichomonosis. *Veterinary Parasitology*, v.187, p.319–322, 2012
- TOMA S.B., MOREIRA R.J.C. & CANAVACI F.H.T. Atividade anti-helmíntica da ivermectina 1% injetável em suínos naturalmente parasitados. *Hora Veterinária*, 2:31-33, 2003
- ZALONIS, C. A.; PILLAY, A.; SECOR, W.; HUMBURG, B.; ABER, R.; Rare case of trichomonal peritonitis. *Emerging Infectious Diseases*. v. 17, p. 1312–1313, 2011.

7 ANEXOS

Anexo 1 Protocolo Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAIS DE PARABASALÍDEOS OPORTUNISTAS EM AMOSTRAS FECAIS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS", protocolada sob o CEUA nº 2614120717 (ID 000824), sob a responsabilidade de **Vera Lucia T. de Jesus** e equipe; *Caroline Cunha Carreiro; Daniele dos Santos Juliano; Nelson Oscaranha Gonsales Costa; Jorge Luis Baroto Pereira* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 07/12/2017.

We certify that the proposal "EVALUATION OF LABORATORY DIAGNOSTIC METHODS OF OPPORTUNIST PARABASALIDES IN FECAL SAMPLES OF DOMESTIC ANIMALS", utilizing 50 Dogs (males and females), 50 Bovines (males and females), 50 Caprines (males and females), 50 Ovines (males and females), 50 Swines (males and females), protocol number CEUA 2614120717 (ID 000824), under the responsibility of **Vera Lucia T. de Jesus** and team; *Caroline Cunha Carreiro; Daniele dos Santos Juliano; Nelson Oscaranha Gonsales Costa; Jorge Luis Baroto Pereira* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 12/07/2017.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 12/2017 a 05/2018

Área: Reprodução E Avaliação Animal

Origem:	Animais de proprietários	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	10 a 3650 dias	N:	50
Especie:	Cães			Peso:	100 a 50000 g		
Linhagem:	Diversas raças						
Origem:	Animais de proprietários	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	2 a 120 meses	N:	50
Especie:	Bovinos			Peso:	35 a 1000 kg		
Linhagem:	mestiços						
Origem:	Animais de proprietários	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	2 a 120 meses	N:	50
Especie:	Caprinos			Peso:	30 a 150 kg		
Linhagem:	mestiços						
Origem:	Animais de proprietários	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	2 a 120 meses	N:	50
Especie:	Ovinos			Peso:	30 a 150 kg		
Linhagem:	mestiços						
Origem:	Animais de proprietários	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	10 a 3650 dias	N:	50
Especie:	Suínos			Peso:	15 a 300 kg		
Linhagem:	mestiços						

Local do experimento: Laboratório de patologia da Reprodução

Seropédica, 16 de abril de 2018

Anexo 1 Protocolo Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ- Continuação



**Comissão de Ética no
Uso de Animais**
Instituto de Veterinária



Seropédica, 13 de julho de 2017
CEUA N 2614120717

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE PROPOSTA À COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CPF: 700.346.107-44

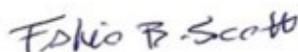
Título do projeto: AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAIS DE PARABASILIDEOS OPORTUNISTAS EM AMOSTRAS FECAIS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS

Responsável: Vera Lucia T. de Jesus

Equipe: Caroline Cunha Carreiro, Daniele dos Santos Juliano, Nelson Oscaranha Gonsales Costa, Jorge Luis Baroto Pereira

Telefone: (21) 991225418 e-mail: jesus@ufrj.br

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, avaliará os documentos seguindo calendário de reuniões vigentes. Todo o processo poderá ser acompanhado no sistema (<http://r1.ufrj.br/ccua/>) por meio da sua senha de acesso.



Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Anexo 2. Declaração de aprovação da CEUA/IV/UFRRJ - 006/2014



Seropédica 24 de junho de 2014

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo de número 006/2014 intitulado **“IDENTIFICAÇÃO DE TRICHOMONADÍDEOS EM ANIMAIS DOMÉSTICOS: DIAGNÓSTICO, FREQUÊNCIA, ANÁLISE MORFOLÓGICA E MOLECULAR.”** encaminhado pelo Professor (a) do Departamento de Parasitologia Animal, Carlos Wilson Gomes Lopes. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-IV realizada no dia 24 de junho de 2014, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Fabio Barbour Scott
Coordenador CEUA-IV

Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador CEUA-IV

Anexo 3. Composição do meio de cultura Diamond

COMPOSIÇÃO	CONCENTRAÇÃO mg/L
Ácido ascórbico	120
Cisteína	600
Extrato de levedura	6000
Fosfato de potássio monobásico	400
Fosfato de potássio dibásico	400
Maltose	3000
Peptona de caseína	120 00
Soro bovino inativado	0,1 L
Água destilada q.s.p	1 L

Anexo 4. Composição do meio de cultura Hank's

COMPOSIÇÃO	CONCENTRAÇÃO mg/L
Bicarbonato de sódio	350
Cloreto de cálcio dihidratado	140
Cloreto de potássio	400
Dextrose	10 00
Extrato de levedura	100
Fosfato de sódio monobásico	120
Fosfato dibásico de potássio	60
Hidrolisado de lactoalbumina	50 00
Sulfato de magnésio hepta hidratado	200
Vermelho de fenol	24
Soro bovino inativado	0,1 L
Água destilada q.s.p	1 L

Anexo 5. Composição do meio de cultura Caldo Peptonado

COMPOSIÇÃO	CONCENTRAÇÃO mg/ L
Cloreto de sódio	3000
Dextrose	25
Extrato de carne	3000
Fosfato dibásico de sódio 12xhidratado	2000
Peptona bacteriológica	10000
Vitamina C	500
Soro bovino inativado	0,1 L
Água destilada q.s.p	1 L

Anexo 6. Composição do meio CHD

COMPOSIÇÃO	CONCENTRAÇÃO mg/ mL
Bicarbonato de sódio	175
Cisteína	150
Cloreto de cálcio dihidratado	70
Cloreto de potássio	200
Cloreto de sódio	750
Dextrose	506, 25
Extrato de carne	750
Extrato de levedura	1550
Fosfato de potássio monobásico	100
Fosfato de sódio monobásico	60
Fosfato dibásico de potássio	130
Fosfato dibásico de sódio 12xhidratado	500
Hidrolisado de lactoalbumina	2500
Maltose	750
Peptona bacteriológica	2500
Peptona de caseína	3000
Sulfato de magnésio hepta hidratado	100
Vermelho de fenol	12
Vitamina C	155
Soro bovino inativado	0,1 L
Água destilada q.s.p	1 L

Anexo 7. Tabela de composição do meio de cultura CH.

COMPOSIÇÃO	CONCENTRAÇÃO mg/mL
Bicarbonato de sódio	175
Cloreto de cálcio dihidratado	70
Cloreto de potássio	200
Cloreto de sódio	150
	0
Dextrose	512
	,5
Extrato de carne	150
	0
Extrato de levedura	50
Fosfato de sódio monobásico	60
Fosfato dibásico de potássio	30
Fosfato dibásico de sódio 12xhidratado	100
	0
Hidrolisado de lactoalbumina	250
	0
Peptona bacteriológica	500
	0
Sulfato de magnésio hepta hidratado	100
Vermelho de fenol	12
Vitamina C	250

Anexo 8. CARREIRO, C. C.; COELHO, C. D.; JORGE, J. L. B. P.; COSTA, N. O. G.; DO VALLE PAIVA, R.; TEIXEIRA FILHO, W. L.; DE JESUS, V. L. T. Parasitos intestinais em suínos confinados em uma criação no município de Pinheiral, RJ. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 38(Supl. 2), p. 117-122, 2016.

Parasitos intestinais em suínos confinados em uma criação no município de Pinheiral, RJ*

Caroline C. Carreiro^{1*}, Cleide Domingues Coelho², Jorge Luis B. Pereira Jorge³, Nelson Oscaranha Gonsales Costa⁴, Rafael do Valle Paiva⁵, Walter Leira Teixeira Filho⁶, Adriane Garcia da Rosa⁷ e Vera Lúcia T. de Jesus⁸

ABSTRACT. Carreiro C.C., Coelho C.D., Jorge J.L.B.P., Costa N.O.G., Paiva R.V., Teixeira Filho W.L., Rosa A.G. & de Jesus V.L.T. [Intestinal parasites in pigs confined in a creation in the municipality of Pinheiral - RJ.] *Parasitos intestinais em suínos confinados em uma criação no município de Pinheiral - RJ. Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):117-122, 2016. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, BR 465 Km 7, Campus Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: carolinecarreiro@yahoo.com.br

Gastrointestinal disorders are frequently observed in pigs in different age groups. It is responsible for important economic losses, not only the mortality rate of piglets, as the reduction of weight gain and medical expenses. Moreover, in sows it is associated with reduced fertility and irregular repetitions of heat. Despite the great development of intensive pig farming, little is known about the occurrence of endoparasites in this species. Considering that enteritis cause serious economic losses, the objective of this study was to identify the main parasites in stool confined sows and piglets. Fifty-five fecal samples (23 sows and 32 piglets) were subjected to the examination of fresh and centrifugal technique - fluctuation in sugar, and observation by optical microscopy. The results showed that 72.7% of the animals were positive for at least one parasite, being quite significant co-infection, where 75% of infected animals had more than one agent. In matrices, coccidia presented more frequent (60.87%), followed by Parabasalidea (52.17%), Strongyloidea (47.8%) and Balantidium (26.08%). Coccidia are also more common in piglets (25%), followed by Strongyloidea (18.75%), Balantidium (12.4%) and parabasalideo (9.37%). Thus, we can conclude that despite the great development of intensive pig farming, the intestinal parasites are a major obstacle in the production, with the need for more effective programs of prevention and control.

KEY WORDS. Pigs, endoparasits, helminths, coccidia, parabasalids.

*Recebido em 22 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 20 de outubro de 2016.

¹ Médica-veterinária, MSc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Campus Seropédica, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: carolinecarreiro@yahoo.com.br - bolsista CAPES.

² Médica-veterinária, DSc, Anexo 1, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: Domingues.cleide@yahoo.com.br

³ Médico-veterinário, Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Estado do Rio de Janeiro, Campus Nilo Peçanha, Rua Pereira de Almeida, 55, Praça da Bandeira, Pinheiral, RJ 20260100. E-mail: jorgejorge@itfj.edu.br

⁴ Médico-veterinário, Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Estado do Rio de Janeiro, Campus Nilo Peçanha, Rua Pereira de Almeida, 55, Praça da Bandeira, Pinheiral, RJ 20260100. E-mail: nelson.costa@itfj.edu.br

⁵ Médico-veterinário, MSc, Programa de Pós-Graduação Ciência, Tecnologia e Inovação Agropecuária, Anexo 1, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: rafael.paiva1@gmail.com

⁶ Biólogo, DSc, Anexo 1, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: leira@ufrrj.br

⁷ Médica-veterinária, MSc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: Adriane.vet@hotmail.com

⁸ Médica-veterinária, DSc, Departamento de Avaliação e Reprodução Animal, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Campus Seropédica, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. *Autora para correspondência, E-mail: jesus@ufrrj.br