

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

Cystoisospora felis (WENYON, 1923)
FRENKEL, 1977 (Apicomplexa:
Cystoisosporinae): Infecção experimental de
suínos com oocistos esporulados e de seus
hipnozoítas em gatos.

Patrícia Seibel Melo

2002



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO REO DE JANEIRO
INSTITUTO DIE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**

***Cystoisospora felis* (WENYON, 1923) FRENKEL, 1977
(Apicomplexa: Cystoisosporinae): INFECÇÃO EXPERIMENTAL
DE SUÍNOS COM OOCISTOS ESPORULADOS E DE SEUS
HIPNOZOÍTAS EM GATOS.**

PATRÍCIA SEIBEL MELO

Sob a Orientação do Professor
Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Magister Scientiae em Medicina
Veterinária, Área de Concentração
em Parasitologia Animal

Seropédica, RJ
Dezembro de 2002

636.089696
M528c

T

Melo, Patrícia Seibel, 1978-
Cystoisospora felis (Wenyon, 1923)
Frenkel, 1977 (Apicomplexa:
Cystoisosporinae): infecção
experimental de suínos com oocistos
esporulados e de seus hipnozoítas em
gatos/Patrícia Seibel Melo. - 2002.
50f. : il., tabs.

Orientador: Carlos Wilson Gomes
Lopes.

Dissertação (Mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f.43-50

1. *Cystoisospora felis* - Teses. 2.
Suíno - parasito - Teses. 3. Relação
hospedeiro parasito - Teses. 4.
Parasitologia Veterinária - Teses. I.
Lopes, Carlos Wilson Gomes, 1947- II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Instituto de Veterinária.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**

PATRÍCIA SEIBEL MELO

Dissertação submetida ao curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae**, em 27 de dezembro de 2002,

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/12/2002.

Carlo Wilson Gomes Lopes (Ph.D., L.D.) UFRRJ
(Orientador)

Francisco ar os Rodrigues de Oliveira (Ph.D.) UENF'

Teresa Cristina Bergamo do Bomfim (Ph.D.) UFRRJ

Walter Leira Teixeira Filho (Ph.D.) UFRRJ

Aos meus pais e minha irmã pela compreensão, apoio, carinho e amizade a mim dispensado.

Aos animais como prova da minha tentativa de ajudar de alguma forma em melhorar as suas condições de vida, assim como o conhecimento do homem.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Carlos Wilson Gomes Lopes que sempre foi mais que um mestre, mas também um amigo, ensinando e incentivando me a crescer profissionalmente e pessoalmente. Com a sua fidelidade à ciência e aos seus orientados ele demonstrou que apesar das dificuldades, a verdade em que acreditamos realizar-se-á, e que nada é impossível para quem realmente almeja algo. Por estes e outros ensinamentos é que agradeço ao meu orientador e meu amigo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, principalmente aos Professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias que diretamente ou indiretamente foram fundamentais no desenvolvimento deste trabalho, assim como na conclusão deste mestrado.

Aos pesquisadores do Laboratório de Coccídios e Coccidioses e do curso de Pós-Graduação Alexandre Dias Munhoz, Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, Fabiana Valadão Massad, Marcel Teixeira, George Rego Albuquerque e Paulo Roberto de Carvalho Filho e Walter Flausino que durante muito tempo não só me ajudaram neste e outros trabalhos, mas também são grandes amigos.

Ao CNPq pelos recursos financeiros que viabilizaram este trabalho.

BIOGRAFIA

PATRÍCIA SEIBEL MELO, filha de Gil Ernesto Brito Melo e Regina Maria Seibel Melo, natural da cidade do Rio de Janeiro, onde nasceu em 13 de janeiro de 1978.

Concluiu o segundo grau no final de 1995 e prestando vestibular logo a seguir, conseguiu ingressar no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no ano de 1996.

Durante o curso de Medicina Veterinária foi estagiária no Departamento de Clínica no Hospital de Grandes Animais e do Departamento de Parasitologia Veterinária no laboratório de Coccídios e Coccidioses.

Participou também no Departamento de Parasitologia Veterinária como bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq de 1998 até 2000.

Formou-se no final do ano de 2000, e no ano de 2001 ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, com Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

No final de 2001 prestou concurso público para a Secretaria de Estado de Agricultura, Abastecimento, Pesca e Desenvolvimento do Interior e até o presente momento está trabalhando na Coordenadoria de Defesa Sanitária Animal como Coordenadora Setorial de Vigilância Zoosanitária e Combate as Doenças.

SUMÁRIO

	CONTEÚDO	Página
1.	INTRODUÇÃO	1
PARTE 1	- INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE SUÍNOS COM OOCISTOS ESPORULADOS DE <i>Cystoisospora felis</i> (WENYON, 1923) FRENKEL, 1977 (APICOMPLEXA: CYSTOISOSPORINAE)	2
2.	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Posição Taxionômica	2
2.2	Considerações sobre <i>Cystoisospora felis</i>	2
2.3	O Suíno como Hospedeiro Definitivo de Coccídios	5
2.4	Interação com Outras Infecções Cujo Hospedeiro Intermediário Seja o Suíno	7
2.4.1	<i>Toxoplasma gondii</i>	7
2.4.2	<i>Caryospora bigenetica</i>	8
2.4.3	Espécies do gênero <i>Sarcocystis</i>	8
2.4.4	Espécies do gênero <i>Cystoisospora</i> (= <i>Isospora</i>)	9
2.4.5	Fatores associados a hábitos alimentares	9
2.5	Digestão Péptica	10
2.6	Importância da Suinocultura no Brasil e no Mundo	12
3.	MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1	Origem dos Animais	14
3.1.1	Procedência dos gatos naturalmente infectados com <i>Cystoisospora felis</i>	14
3.1.2	Procedência dos suínos	14
3.2	Procedimentos Laboratoriais	14
3.2.1	Obtenção de oocistos esporulados de <i>Cystoisospora felis</i> e preparação de inóculos para posterior infecção de suínos	14

3.3	Infecção Experimental dos Suínos com Oocistos Esporulados de <i>Cystoisospora felis</i>	15
3.4	Digestão Péptica	16
3.5	Quantificação dos Hipnozoítas	16
3.6	Morfometria	17
3.7	Análise Estatística	17
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
PARTE 2 -	INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE GATOS COM VÍSCERAS DE SUÍNOS INFECTADOS COM <i>Cystoisospora felis</i>	26
1.	REVISÃO DE LITERATURA	26
1.1	Infecção de Gatos com <i>Cystoisospora felis</i>	26
1.2	Caracterização da Infecção por <i>Cystoisospora felis</i>	27
1.3	Patogenicidade da Espécie <i>Cystoisospora felis</i>	28
1.4	Controle e Tratamento da Coccidiose em Cães e Gatos	29
2.	MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1	Obtenção de Oocistos de <i>Cystoisospora felis</i>	30
2.2	Origem dos Animais	30
2.2.1	Gatos criados em laboratórios para experimentação	30
2.2.2	Suíno	31
2.3	Infecção Experimental de Suíno com Oocistos de <i>Cystoisospora felis</i>	31
2.4	Bioprosa dos Filhotes de Gatos com Oocistos e Com Vísceras de Suínos com Hipnozoítas de <i>Cystoisospora felis</i>	31
2.5	Análise Estatística	32

3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.	CONCLUSÃO	42
5.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	43

ÍNDICE DE TABELAS

	CONTEÚDO	Página
Tabela 1	- Média da temperatura corporal dos suínos infectados com $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados de <i>Cystoisospora felis</i> .	18
Tabela 2	- Distribuição de hipnozoítas de <i>Cystoisospora felis</i> em suínos pertencentes ao grupo experimentalmente infectado com $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados.	21
Tabela 3	- Médias das medidas do diâmetro maior dos hipnozoítas de <i>Cystoisospora felis</i> presentes em vísceras de suínos infectados com $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados provenientes de gatos naturalmente infectados.	22
Tabela 4	- Médias das medidas do diâmetro menor dos hipnozoítas de <i>Cystoisospora felis</i> presentes em vísceras de suínos infectados com $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados provenientes de gatos naturalmente infectados.	23
Tabela 5	- Estimativa da quantidade de hipnozoítas de <i>Cystoisospora felis</i> isolados em peso total das vísceras dos suínos infectados experimentalmente.	25
Tabela 6	- Médias de medidas de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> eliminados por gatos infectados experimentalmente.	39
Tabela 7	- Médias de medidas de esporocistos de <i>Cystoisospora felis</i> eliminados por gatos infectados experimentalmente.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	CONTEÚDO	Página
Figura 1 -	Segmento do intestino delgado (íleo) de suíno, com tumefação da placa de Peyer no suíno infectado com oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> (A), em comparação com o segmento deste mesmo órgão do suíno controle (B), ao 3º dia após infecção.	19
Figura 2 -	Hipnozoíta de <i>Cystoisospora felis</i> (→) isolado através de digestão péptica de linfonodos mesentéricos de suíno no 3º dia após infecção.	20
Figura 3 -	Oocisto esporulado de <i>Cystoisospora felis</i> , de gatos naturalmente infectados, em solução saturada de açúcar.	33
Figura 4 -	Eliminação de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> de gato experimentalmente infectado, via oral, com 10^6 oocistos esporulados.	34
Figura 5 -	Eliminação de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> de gato alimentado com 10 gramas de fígado de suíno previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.	35
Figura 6 -	Eliminação de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> de gato alimentado com 10 gramas de baço de suíno previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.	36
Figura 7 -	Eliminação de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> de gato alimentado com 10 gramas de linfonodos mesentéricos de suíno previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.	37
Figura 8 -	Comparação das curvas de eliminação do somatório de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> eliminados por gatos infectados por oocistos esporulados (—) e eliminados pelos gatos alimentados com fígado, baço e linfonodos mesentéricos (—) de suínos infectados previamente com este parasito.	38

RESUMO

MELO, Patrícia Seibel. *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) FRENKEL, 1977
(Apicomplexa: Cystoisosporinae): Infecção experimental de suínos com oocistos esporulados e de seus hipnozoítas em gatos. Seropédica: UFRRJ, 2002. 50p. (Dissertação, Magister Scientiae em Ciências Veterinárias - Parasitologia Veterinária).

A primeira fase deste trabalho teve como objetivo avaliar a possibilidade de suínos domésticos albergarem em suas vísceras hipnozoítas de *Cystoisospora felis*. Para tanto foram infectados oralmente quatro suínos com $3,5 \times 10^5$ oocistos deste parasito. Através de necropsias realizadas aos 3°, 7°, 14° e 33° dias após infecção (DAI) órgãos como: intestinos delgado e grosso, baço, fígado, placas de Peyer e linfonodos mesentéricos foram removidos de cada suíno e submetidos à digestão péptica para pesquisar a distribuição dos hipnozoítas nestes órgãos. Dentre estes, somente não foi observada a presença do parasito no intestino grosso. Através da quantificação de hipnozoítas de *C. felis* nestes órgãos, se encontrou uma distribuição de parasitos que variava quanto ao órgão e quanto ao DAI. Observou-se que o maior tropismo foi pelo baço, fígado, linfonodos mesentéricos, intestino delgado e placas de Peyer. Na segunda fase deste trabalho foi verificada a possibilidade de transmissão do parasito a gatos através da ingestão de vísceras de suínos previamente infectados, assim como acompanhar as curvas de eliminação de oocistos para a infecção originada por ingestão de 10^6 oocistos esporulados de *C. felis* e por linfonodos mesentéricos, fígado e baço de suínos previamente infectados com este parasito. As diferentes doses infectantes fornecidas por cada tipo de infecção influíram no período pré-patente (PP), no período de patência (PPa) e na curva de eliminação de oocistos de *C. felis*. A infecção de gatos por fígado e linfonodos mesentéricos de suíno determinou o menor PP e o maior período foi determinado pela ingestão de baço. O maior PPa nestes animais foi determinado pela infecção por ingestão de fígado e baço. A infecção por ingestão de oocistos de *C. felis* foi responsável por um PPa de 20 dias. O menor PPa foi observado pela infecção por ingestão de linfonodos mesentéricos. Apesar da análise das médias das medidas de diâmetros maior e menor dos oocistos e esporocistos de *C. felis* eliminados nos diferentes tipos de infecção foram observadas algumas diferenças significativas quando estas foram comparadas entre si, não foi observada diferença entre os índices morfométricos esporocistos eliminados por todos os tipos de infecção. Através dos resultados obtidos neste experimento pode-se indicar o suíno como um novo hospedeiro intermediário da espécie *C. felis* por ter a capacidade de albergar hipnozoítas em suas vísceras. A transmissão do parasito a felinos através da ingestão do baço, do fígado e dos linfonodos mesentéricos destes suínos infectados, determinou a eliminação de oocistos nas fezes por estes gatos.

Palavras-chaves: suínos; infecção experimental; *Cystoisospora felis*

ABSTRACT

MELO, Patricia Seibel. *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) FRENKEL, 1977
(Apicomplexa: Cystoisosporinae): Experimental infection of swine with sporulated oocysts and its hipnozoites to cats. Seropédica; UFRRJ, 2002. 50p.
(Dissertation, Magister Scientiae in Veterinary Science - Veterinary Parasitology).

The first phase of this work had the objective of verifying the possibility of domestic swines retain in their organs the hipnozoites of *Cystoisospora felis*. Then were infected orally four swines with $3,5 \times 10^5$ oocysts of this parasite. At the necropsies realized in the 3°, 7°, 14° e 33° days after infection (DAI), had submitted to pepsin digestion the organs large and small intestines, spleen, liver, Peyer's patch and mesenteric linphonodes of swines to observe the distribution of the parasite. Among these, only in small intestine wasn't observed the presence of the parasite. By the count of hipnozoites of *C. felis* present in these organs, was found a distribution that had varied on the organ and on the DAI. Was verified that the major tropism was to the spleen, liver, mesenteric linphonodes, large intestine and Peyer's patch from swines. At the second phase of this work was verified the possibility of transmission of the parasite to cats by the ingestion of organs from swines previously infected, as well as to get the elimination curves of oocysts from the infection originated by the ingestion of 10^6 *C. felis* oocysts and by the ingestion of mesenteric linphonodes, liver and spleen from swines previously infected with this parasite. The different infecting doses offered by each type of infection, had affected the Prepatent Period (PP), the Patent Period (PPa) and the elimination curves of *C. felis* oocysts. The infection of cats with liver and mesenteric linphonodes from swines determinated a minor PP, and the major period was determinated by ingestion of spleen. The major PPa from these animals was determinated by the infection of cats with ingestion of spleen and liver. The infection originated by ingestion of *C. felis* oocysts was responsible for a PPa of 20 days. The minor PPa was observed in the infection with ingestion of mesenteric linphonodes. Although the analysis from the mean of the major and minor diameter from *C. felis* oocysts and sporocysts eliminated by each type of infection demonstrates some significative differences, but not between the measures of morfometric index from sporocysts eliminated by all types of infection. By the results got in this work is possible to indicate the swine as a new intermediate host to the *C. felis* specie because of the capacity of retaining in their organs the hipnozoite. The transmission of parasite to feline by the ingestion of spleen, liver and mesenteric linphonodes from infected swines, is responsible for the elimination of oocysts in the feces from these cats.

Key-words: swines; experimental infection; *Cystoisospora felis*

1. INTRODUÇÃO

Entre os coccídios, alguns são conhecidos, principalmente, como agentes oportunistas e recentemente esse aspecto vem ganhando importância com o advento de doenças causadas por imunodepressão ou estresse. Há também alguns medicamentos utilizados em quimioterapia que deixam os animais e o homem vulneráveis a agentes considerados pouco patogênicos. O uso indiscriminado de corticóides em Medicina Veterinária e a alta produtividade de determinadas atividades pecuárias têm sido fatores predisponentes para a infecção de agentes oportunistas em animais.

E conhecido que algumas espécies de animais com interesse agropecuário tais como: suínos, bovinos, coelhos e aves podem ter em suas vísceras ou músculos cistos de várias espécies de protozoários, entre eles *Toxoplasma gondii*, espécies do gênero *Sarcocystis* e de *Cystoisospora*. Porém, pouco se sabe sobre o efeito da infecção por *Cystoisospora felis* em vísceras destes animais, bem como a sua ação deletéria no ganho de peso e no desenvolvimento dos animais infectados.

A criação de suínos vem crescendo cada vez mais em nosso país, o que torna importante o conhecimento das possíveis parasitoses que podem afetar estes animais e consequentemente podem chegar ao consumidor por via indireta. Além deste fato, a possível indicação de que suínos podem ser novos hospedeiros intermediários para a espécie *C. felis* tem importância na epidemiologia e dispersão deste parasito entre os gatos.

Para tanto o presente trabalho teve como objetivos:

- Determinar experimentalmente se *Sus scrofa domestica* é hospedeiro intermediário de *C. felis*;
- Determinar se há alterações clínicas em suínos infectados experimentalmente com este parasito;
- Avaliar a distribuição dos hipnozoítas de *C. felis* em vísceras de suínos;
- Observar a viabilidade dos hipnozoítas de *C. felis* presentes em baço, fígado e linfonodos mesentéricos de suínos através da infecção experimental de felinos livres de infecção por coccídios e
- Determinar se há alterações na caracterização morfológica dos oocistos, no período pré-patente, no período de patência e nas curvas de eliminação dos oocistos de gatos infectados experimentalmente.

PARTE 1- INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE SUÍNOS COM OOCISTOS ESPORULADOS DE *Cystoisospora felis* (WENYON, 1923) FRENKEL, 1977 (APICOMPLEXA: CYSTOISOSPORINAE)

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Posição Taxionômica

A espécie *Cystoisospora felis* (=*Isospora felis*) pertence atualmente a família Sarcocystidae, subfamília Cystoisosporinae, devido as características biológicas e morfológicas das fases evolutivas, como a presença de cistos monozoicos extra-intestinais nos hospedeiros definitivo e intermediário e as diferenças estruturais (fraturas) na parede dos esporocistos dos oocistos desta espécie.

As espécies do gênero *Isospora* são protozoários classificados no filo Apicomplexa. Os membros deste grupo são organismos referidos como coccídias. O termo coccídias foi uma vez utilizado para referir-se primariamente aos membros dos gêneros *Eimeria* e *Isospora*, porém atualmente se incluem as espécies do gênero *Cryptosporidium*, *T. gondii* e outros membros da Classe Eimeriorina. O coccídio tem um ciclo de vida complexo, onde os membros do gênero *Isospora* podem completar seu ciclo de vida somente em um hospedeiro (LINDSAY et al., 1997).

De acordo com a classificação de SMITH (1981), dentro da família Sarcocystidae Poche, 1913 existem as subfamílias Sarcocystinae Poche, 1913, com os gêneros *Sarcocystis* Lankester, 1882 e *Frenkelia* Biocca, 1968, a Toxoplasmatinae Biocca, 1959, com os gêneros *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909, *Hammondia* Fenkel & Dubey, 1975 e *Besnoitia* Henry, 1913, e a Cystoisosporinae Smith, 1981 com o gênero *Cystoisospora* Frenkel, 1977.

2.2 Considerações sobre *Cystoisospora felis*

VonWASIELEWSKI (1904) descreveu pela primeira vez a espécie *C. felis* (=*I. felis*) com o nome *Diplospora bigemina* em um trabalho detalhado de desenvolvimento e esporulação de oocistos e morfologia de esquizontes, além dos merozoítas livres em gatos. A seguir SWELLENGREBEL (1914) também sob o nome de *I. bigemina*, detalhou o desenvolvimento da espécie *C. felis* e, pela primeira vez, descreveu as fases do ciclo biológico com esquizontes em células epiteliais do intestino delgado, além da formação de micro e macrogametócitos, e dos oocistos.

Já, WENYON (1923), citado por HITCHCOCK (1955) propôs o nome de *I. felis* (=*C. felis*) para o coccídio do gato que produzia oocistos de tamanho grande. Aquele autor descreveu e apresentou desenhos dos estágios evolutivos dos ciclos assexuado e sexuado nas células epiteliais das vilosidades do intestino delgado e ceco, obtidos de infecção natural de gatos com este parasito.

A primeira citação feita de *C. felis* no Brasil foi realizada por BARRETO & ALMEIDA (1937) em gatos provenientes do antigo Estado da Guanabara, hoje Município do Rio de Janeiro. Na Bahia, a primeira observação foi relatada por BASTOS (1962-1963). Mais tarde AMARAL et al. (1966) assinalaram a presença de *C. felis* em um novo hospedeiro felino, a suçuarana (*Puma concolor*). Ainda, os mesmos

autores citaram a presença deste protozoário em gatos de São Paulo. AMARAL & BIRGEL (1969) assinalaram a presença de *I. bigemina* (=*I. felis*) em São Paulo. ROCHA & LOPES (1971), baseados em NEMESERI (1959), consideraram as ocorrências em cães de *C. felis*, dos autores nacionais, como *I. canis*.

Através do estudo de duas espécies de *Isospora* de felinos, foi observado que estas produziam cistos monozóicos em tecidos parenterais dos hospedeiros intermediários, além de possuírem fraturas nas paredes dos seus esporocistos. Então este novo gênero foi classificado como *Cystoisospora* por FRENKEL (1977). Os cistos monozóicos contêm hipnozoítas e são principalmente encontrados em tecidos linfóides. O diagnóstico desta parasitose se torna difícil, quando realizado pelo laboratório de histopatologia, sendo os hipnozoítas melhor visualizados através da digestão enzimática dos órgãos parasitados. Os hipnozoítas são vistos no material digerido com ou sem o vacúolo parasitóforo e geralmente, à fresco, estão em movimento (SMITH, 1981).

As espécies do gênero *Cystoisospora* ocorrem como parasitas intestinais em muitos carnívoros (BECKER et al., 1981).

A aglomeração e a falta de saneamento promovem a disseminação dos coccídios do gênero *Cystoisospora*. Nos cães e gatos, o ciclo endógeno do parasito é encontrado principalmente no trato digestivo de animais jovens, que se infectam pela ingestão de oocistos esporulados no meio ambiente e por ingestão de cistos monozóicos presentes nas vísceras de hospedeiros intermediários, previamente infectados (DUBEY & MEHLHORN, 1978).

As suas espécies são identificadas de acordo com as características morfológicas dos oocistos esporulados, como o tamanho, a forma, a cor e textura, e o tipo de conteúdo interno. Os oocistos correspondem a forma de resistência do ciclo de vida do parasito no ambiente, ao ser eliminado nas fezes do hospedeiro definitivo. Muitos oocistos são eliminados não esporulados e por isso passam por um período de esporulação, no ambiente, com a finalidade de se tornar infectante. Os oocistos esporulados das espécies de *Isospora* são caracterizados por terem dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítas. O esporocisto pode ou não ter o corpo de Stieda. Estudos realizados a respeito do ciclo de vida das espécies de *Isospora* com o corpo de Stieda indicam que estas são homoxenas e geralmente localizadas no intestino delgado, enquanto que as espécies que não apresentam Corpo de Stieda são heteroxenas facultativas e podem utilizar-se de um hospedeiro intermediário, onde desenvolvem estágios latentes destes parasitos (LINDSAY & BLAGBURN, 1994).

Os estágios endógenos foram estudados por HITCHCOCK (1955) e LICKFELD (1959). Estes foram os primeiros a descreverem este parasito proveniente de infecções puras em filhotes experimentalmente infectados. Nenhum sinal clínico foi observado, a não ser fezes pastosas com traços de muco, observadas a partir de 192 horas após a inoculação (HAI). Histologicamente houve destruição superficial das células epiteliais invadidas pelo parasito às 144 HAI. No período entre 168 e 216 HAI existia hiperemia da lâmina própria, infiltração neutrofílica e hipersecreção pela mucosa. Além de hiperplasia de células epiteliais como resultado do parasitismo.

Os felinos são caracterizados como hospedeiros definitivos de *C. felis* e *C. rivolta*. Camundongos, ratos, cobaias, cães, coelhos, bovinos e pássaros têm sido descritos como hospedeiros intermediários (DUBEY, 1975; SMITH, 1981; FREIRE & LOPES, 1996; COSTA & LOPES, 1998). Nos hospedeiros intermediários são encontrados somente cistos monozóicos localizados extraintestinalmente, que representam a forma de resistência do parasita, porém considerado como importante meio de dispersão das espécies (DUBEY & FRENKEL, 1972).

De acordo com FAYER (1980) a eliminação contínua ou intermitente de oocistos por felinos pode ser considerada como uma condição comum. Porém, estes podem aumentar quando fatores estressantes estiverem associados, tais como a movimentação de animais, a diferença bruscas de temperatura, as modificações de dieta alimentar, as aglomerações ou como secundário a outras infecções.

Poucos são os trabalhos que abordam a importância econômica das espécies do gênero *Cystoisospora*. Comprovou-se a ação da espécie *C. felis* como fator determinante de enfermidade em camundongos albinos infectados (LOSS & LOPES, 1992a) onde observaram que estes animais infectados deixaram de ganhar peso durante o seu desenvolvimento.

Embora a potencialidade infecciosa de *C. felis* seja reconhecida por BRÖSIGKE et al. (1982); LOSS (1991); FREIRE & LOPES, (1995), a exemplo do que ocorre com outros membros da família Sarcocystidae, pouco se conhece sobre as síndromes espoliativas geradas em seus hospedeiros intermediários (LOSS, 1991; FREIRE, 1993).

Tendo em vista as observações de outros pesquisadores à infecção experimental com *C. rivolta* (BRÖSIGKE et al., 1982) e com *C. felis* em bovinos (FAYER & FRENKEL, 1979), em camundongos (FREIRE, 1993), em cobaios (HERZOG et al., 1993), em coelhos por COSTA & LOPES (1994). OLIVEIRA (2001) avaliou a infecção experimental de camundongos por *C. ohioensis*. Nestes experimentos foram verificados que o pesos das carcaças foram afetados negativamente, além do fato que o maior peso dos órgãos dos animais parasitados contribuiu para um menor rendimento da carcaça, visto que, o parasitismo diminuiu, também, o peso médio diário e o ganho de peso médio destes camundongos.

BRÖSIGKE (1981), estudando a freqüência de hipnozoítas de *C. rivolta* no organismo de camundongos suíços albinos observou que, embora largamente distribuído pelo organismo do hospedeiro, estes parasitas não foram observados no cérebro.

Estudos sobre a infecção experimental de camundongos por *C. felis* (LOSS & LOPES, 1992a; FREIRE & LOPES, 1996), ao considerar o camundongo como hospedeiro intermediário, observaram alteração no ganho de peso do mesmo, chamando atenção para a importância que esta protozoose poderia ter.

As vísceras estômago, coração, pulmão, intestino delgado e intestino grosso já foram registradas como passíveis de infecção por espécies de *Cystoisospora* (DUBEY, 1979a; BRÖSIGKE, 1981; BRÖSIGKE et al., 1982; LOSS, 1984; COSTA & LOPES, 1994; FREIRE & LOPES, 1996).

A presença e a quantidade de hipnozoítas, por órgãos de um animal infectado, irá depender da dose infectante. BRÖSIGKE (1981), enfatizou sobre a dificuldade de se encontrar hipnozoítas de *C. rivolta* em cortes de vísceras, oriundas de animais inoculados com menos do que 2×10^6 ou 2×10^7 oocistos por animal. FRENKEL & DUBEY (1972) e DUBEY & FRENKEL (1972) fizeram citações sobre a dificuldade na detecção destes protozoários, quando envoltos pelas células do hospedeiro, embora tenham demonstrado a presença de estágios extra-intestinais de *C. rivolta* em baço e linfonodos mesentéricos de camundongos e gatos infectados com 10^3 e 10^4 oocistos por animal. Levando-se em consideração o estado infectante teórico de oito esporozoítas viáveis por oocisto, estes, quando liberados, poderiam seguir dois caminhos: multiplicação sexuada no intestino do hospedeiro definitivo e multiplicação, por endodiogenia, no hospedeiro intermediário, se transformando em hipnozoíta extra-intestinalmente (MARKUS, 1975).

Estudos sobre a freqüência de hipnozoítas de *C. rivolta* em vísceras de camundongos experimentalmente infectados, demonstraram que estas formas são amplamente distribuídas pelo organismo do hospedeiro infectado, excetuando o cérebro (BRÖSIGKE, 1981; BRÖSIGKE et al., 1982). Ainda, os mesmos autores, consideraram que os órgãos de maior freqüência para hipnozoítas seriam o fígado, baço e linfonodos mesentéricos. Além destes, as Placas de Peyer também foram incluídas por FREIRE & LOPES (1996) como parasitadas por *C. felis*.

FREIRE (1993) estudou a influência do processo de fagocitose na infecção por *C. felis* em camundongos e verificou que os fagócitos têm grande importância na disseminação das suas formas extra-intestinais.

A quantificação relativa dos cistos monozóicos, obtidos a partir de infecções experimentais com *C. rivolta* em camundongos albinos, serviu para demonstrar que esta espécie apresenta acentuado tropismo para linfonodos mesentéricos e fígado (BRÖSIGKE et al, 1982). Por outro lado, questões inerentes à distribuição pelas vias sanguínea e linfática, ainda não foram esclarecidas. Possivelmente a via sanguínea esteja relacionada com a dispersão de zoítas através de sistemas de recirculação, tais como o sistema linfático (LOSS, 1991).

FREIRE & LOPES (1996), observaram hipnozoítas de *C. felis* nos rins, pulmão e coração, relacionando a presença do parasita nestes órgãos a uma distribuição incidental e não a uma via normal de acesso parasitário. Isto permite inferir que estes órgãos não são os de predileção das espécies do gênero *Cystoisospora*, pois em camundongos este fato foi também confirmado através das observações feitas na avaliação do peso das vísceras por OLIVEIRA (2001).

OLIVEIRA (2001) verificou que durante a passagem de *C. ohioensis* pelo órgão, este tem seu peso médio percentual aumentado e que possivelmente isto ocorra devido a eliminação de algumas formas e o encistamento de outras. Como não ocorre multiplicação do parasita no hospedeiro intermediário, os órgãos voltam ao peso médio percentual normal durante o processo crônico da infecção, onde os órgãos de eleição do parasito foram placa de Peyer, linfonodos mesentéricos e fígado.

FREIRE & LOPES (1996) verificaram que morfologicamente os hipnozoítas eram elipsóides, em forma de bananas. As mensurações realizadas nos dias 7°, 9°, 16° e 21° após a infecção originaram um valor médio equivalente a $24,03 \pm 2,4 \times 9,09 \pm 1,5 \mu\text{m}$, com índice morfométrico de 2,64 em camundongos albinos.

2.3 O Suíno como Hospedeiro Definitivo de Coccídios

LEVINE & IVENS (1986) listaram 3 espécies de *Isospora* que acometem suínos: *I. suis*, *I. al mataensis* e *I. neyray*.

Coccidiose em animais recém nascidos causadas por *I. suis* é frequente onde porcos são criados em confinamento (SANFORD & JOSEPHSON, 1981; COUSSEMENT et al, 1981; LIMA et al., 1983; CHRISTENSEN & HENRIKSEN, 1994) e é responsável por 15 a 20% da diarréia em leitões.

Além disso a coccidiose em suínos é uma doença que acomete principalmente os leitões e a espécie *I. suis* é uma das causas de diarréia em neonatos. As matrizes e os suínos em final de produção não apresentam sinais clínicos de infecção e geralmente não eliminam oocistos nas fezes. Os oocistos de *I. suis* podem ser observados nas fezes de suínos recém nascidos porém sua importância como causa de doença não foi demonstrada (LINDSAY & BLAGBURN, 1994).

Os estágios endógenos do *I. suis* são encontrados no intestino delgado e ocasionalmente no ceco e cólon. A densidade dos parasitos é muito alta no jejuno e íleo e os seus estágios evolutivos são encontrados em enterócitos, abaixo do seu núcleo. período pré-patente é de quatro a cinco dias e o período patente é de duas ou mais semanas e podendo ocorrer dois ou três picos de eliminação de oocistos. Estágios evolutivos extra-intestinais não foram encontrados nos leitões infectados ou em camundongos inoculados experimentalmente (STUART et al., 1982; HARLEMAN & MEYER, 1984; PINCKNEY et al., 1993).

Estudos experimentais indicam que o desenvolvimento de sinais clínicos e as lesões microscópicas são dependentes do número de oocistos inoculados e da idade do animal inoculado (STUART et al., 1982; ROBINSON et al., 1983; LINDSAY et al., 1985; JARVINEN et al., 1988; BLAGBURN et al., 1991).

Leitões com sete a quatorze dias de idade desenvolvem diarréia, esta sendo inicialmente pastosa e se tornando fluída após dois ou três dias, com coloração amarelada a acinzentada, e o sangue está sempre ausente. A morbidade pode alcançar a 100% dos leitões de uma leitegada. A mortalidade é geralmente < 20% se *I. suis* é um dos agentes presentes (LINDSAY & BLAGBURN, 1994).

Os mesmos autores (1994) relatam que as coccidioses podem estar presentes em qualquer fazenda sob qualquer condição de criação. Surtos severos podem ocorrer mais freqüentemente em meses quentes quando as condições ambientais favorecem a esporulação rápida dos oocistos no ambiente.

Neste mesmo trabalho, citam que as lesões macroscópicas são observadas somente em leitões muito infectados (< 20%) e consiste de uma membrana fibronecrótica firmemente aderida no jejuno e íleo. Hemorragias no trato intestinal não são observadas e amostras devem ser adequadamente retiradas e enviadas para o diagnóstico laboratorial de infecções concorrentes como bactérias e vírus. Alterações microscópicas consistem de atrofia e fusão das vilosidades, enterite necrótica e hiperplasia das criptas.

A população de suínos em Ghana, no continente Africano, consiste de aproximadamente 400.000 cabeças (FAO, 1998). A produção é principalmente baseada no pequeno sistema semi comercial em áreas periurbanas e rurais, onde a produção direcionada para a família tem alguma importância para a economia informal. Em Ghana foi estimada a prevalência de parasitos presentes em 259 amostras de fezes de suínos em crescimento, 93,4% dos animais eliminaram ovos de parasitos ou oocistos. Dentro destes 77,2% eram de *Eimeria* spp., 27% de *I. suis* e 19,3% de *Balantidium coli*.

Os suínos são mantidos confinados durante a estação das chuvas para proteger as plantações, porém durante a estação da seca são criados livremente para poderem se alimentar de qualquer alimento e de tudo que possam encontrar. O pobre sistema de sanidade de Ghana permite que suínos se alimentem também de dejetos humanos (PERMIN et al., 1999).

A boa higiene e consequentemente as baixas doses infectantes nas fazendas investigadas por MEYER et al. (1999), provavelmente dificultaram a rápida dispersão de *I. suis*. Porém quando há alto número de oocistos causando infecção, há o desenvolvimento da infecção por muito tempo e aumentando, principalmente, durante o período de amamentação. Um pequeno número de oocistos que não são eliminados do ambiente totalmente, mesmo sob boas condições de higiene, são suficientes para originar infecção nas ninhadas sucessivas (CHRISTENSEN & HENRIKSEN, 1994) e um único leitão infectado pode infectar a ninhada toda (MATUSCHKA & HEYDORN, 1980).

Outro coccídio de importância para a suinocultura é o *Cryptosporidium*. A infecção com este parasito tem grande severidade em animais jovens, onde se observa o quadro de diarréia e anorexia (BOMFIM, 1989).

2.4 Interação com Outras Infecções Cujo Hospedeiro Intermediário Seja o Suíno.

Desde que o suíno foi domesticado pelo homem, estabeleceu-se a possibilidade da propagação de agentes patógenos ou não para as suas espécies e demais espécies de animais domésticos. Neste caso, os suínos funcionam como hospedeiros intermediários, sendo o homem, o cão e o gato, os hospedeiros definitivos (MIRANDA, 1999).

Hoje o suíno que é criado de forma intensiva, extensiva ou semi-extensiva e tem o hábito de chafurdar a terra ou próprio alimento, e assim acaba por infectar-se com os oocistos de *C. felis*. Os suínos criados de acordo com o modelo intensivo podem se infectar mais facilmente através de alimentos contaminados com fezes de gatos infectados ou pela contaminação do ambiente com os oocistos destes parasitos. A ingestão destes oocistos determina na distribuição do parasito pelo seu organismo, podendo assim este ser um novo hospedeiro intermediário para esta espécie. Portanto, podendo seguir o mesmo modelo epidemiológico do *T. gondii*.

A infecção de seres humanos por *Sarcocystis* (TADROS & LAARMAN, 1976) e *T. gondii* (DUBEY, 1977) ocorre principalmente pela ingestão de carne suína mal cozida ou crua. O que indica que a carne suína infectada com cistos destes parasitas representa um grande potencial zoonótico para o homem.

Exames macroscópicos e microscópicos em músculos podem indicar a presença de *Cysticercus cellulosae* e espécies do gênero *Sarcocystis* como *S. misheriana*, *S. porcifelis* e *S. suihominis* em áreas rurais do Brasil (MIRANDA, 1999).

2.4.1 *Toxoplasma gondii*

DUBEY (1977) verificou que a ingestão de cistos de *T. gondii* em carne de suínos mal cozida seria a maior fonte de infecção para seres humanos. Mais tarde DUBEY et al. (1984) recuperaram *T. gondii* de 11 tecidos de suínos até o 171 dias após a inoculação. O cérebro e o coração foram os órgãos mais acometidos, não recuperando o parasito de pulmões, baço, linfonodos mesentéricos e pré-escapular desses animais. Como os suínos geralmente são abatidos ainda jovens, este parasito ainda poderia estar presente nos tecidos desses animais no momento que o suíno irá para o mercado.

A suinocultura desenvolvida pelo método extensivo tem sido determinante para infecção dos suínos por *T. gondii*, quando se compara com sistemas de produção intensivos (LUBROTH et al., 1983).

Ao comparar a prevalência de *T. gondii* em granjas de suínos criados a pasto aberto versus os criados em confinamento em baías, LUBROTH et al. (1983) encontraram uma alta taxa de infecção em suínos criados a pasto aberto. WEINMAN & CHANDLER (1954, 1956) descreveram que suínos podem se infectar com *T. gondii* ao se alimentarem de roedores infectados.

GAMBLE et al. (1999) testaram 1897 suínos através de um teste de aglutinação direta modificada, onde foi encontrada uma taxa de 47,4% de animais positivos e uma taxa de 90,6% para grupos de animais criados nas granjas. Neste trabalho, não foi

encontrada nenhuma associação significativa entre as granjas soropositivas e os fatores de risco como alimentação, exposição a roedores e animais silvestres ou presença de gatos. Não houve diferença significativa entre as granjas negativas e positivas, com relação a presença de gatos. Também não houve significância no fator idade em relação a infecção por *T. gondii*.

Dentre os animais de produção, os cistos de *T. gondii* são mais comumente encontrados em tecidos de suínos, ovelhas, cabras e menos frequentemente em aves, coelhos e cavalos. Na Europa e nos EUA, o suíno é considerado a maior fonte de infecção para humanos. Esta hipótese é baseada no fato deste parasito ser encontrado em cortes comerciais de carne de suínos, além da soroprevalência de *T. gondii* em suínos em terminação e criados sob manejo intensivo, entre os anos de 1970 a 1980, que foi maior de 10% em muitos países. Através destes dados e ao compará-los com o tipo de manejo é possível concluir que o uso do manejo intensivo e a adoção de medidas adequadas de higiene, confinamento e prevenção podem auxiliar na redução do risco de infecção destes animais. Os mesmos autores (2000) verificaram que no Brasil, através dos testes de Imunofluorescência (IFAT) e ELISA de 990 e 792 soros analisados, respectivamente, existiam uma soroprevalência de 90%, em 1992, e de 54%, em 1997, pelo IFAT. A soroprevalência foi de 61% pelo ELISA no ano de 1998 (TENTER et al., 2000).

Os mesmos autores (2000) verificaram que na Noruega até 3% dos suínos abatidos são positivos sorologicamente para toxoplasmose, enquanto na Polônia 36% dos suínos abatidos são também positivos sorologicamente para esta parasitose.

2.4.2 *Caryospora bigenetica*

DOUGLAS et al. (1991) verificaram que o suíno também se caracteriza como um hospedeiro intermediário da espécie *Caryospora bigenetica*, pois observaram este parasito em tecidos da orelha, pata, mandíbula e língua.

A infecção natural de suínos por *C. bigenetica* é de difícil diagnóstico pois não é possível realizar a diferenciação do animal doente do sadio durante a inspeção *ante-mortem* e *post-mortem*, por isto há uma grande possibilidade de o suíno infectado chegar ao mercado consumidor. Na natureza o suíno pode adquirir esta infecção pela ingestão de alimentos contaminados com oocistos, grãos ou lixo não processado ou pela ingestão de cobras ou roedores naturalmente infectados. Canibalismo e as mordeduras de caudas podem ser também meios de transmissão entre suínos (WASSERMAN et al., 1985).

2.4.3 Espécies do gênero *Sarcocystis*

DUBEY (1976) relatou que os cães, os gatos e o homem agem como hospedeiros definitivos na sarcocistose, e que o suíno se apresenta como hospedeiro intermediário. Segundo o autor, a espécie envolvida no ciclo suíno-cão não é transmissível ao gato. Pontua ainda a denominação de duas novas espécies *S. porcifehs* para o ciclo suíno-gato e *S. suihominis* para o ciclo suíno-homem, e que a espécie *S. miescheriana* é empregada para o ciclo suíno-cão. Espécies estas observadas no Brasil por MIRANDA (1999).

Dentre estas três parasitoses, as espécies *S. porcifehs* e *S. suihominis* são consideradas patogénicas para os suínos. Os suínos crescem com dificuldade e desenvolvem diarréia, miosite e laminitis após ingestão de esporocistos de *S. porcifehs*.

(DUBEY, 1979b).

2.4.4 Espécies do gênero *Cystoisospora* (=*Isospora*)

A carne de suínos, búfalos, camelos e ovelhas são fontes de infecção para cães com espécies de *Isospora* (=*Cystoisospora*) (GILL et al., 1978; HILALI et al., 1992).

ZAYED & EL-GHAYSH (1998) demonstraram experimentalmente que cães alimentados com 50 gramas de esôfagos, diafragma e coração de 105 suínos, eliminaram nas fezes oocistos *I. ohioensis* (=*C. ohioensis*) e *I. canis* (=*C. canis*). O período pré-patente para *I. ohioensis* e para *I. canis* foi de 3 a 6 e de 4 a 7 dias respectivamente. O período de patência foi de 5 a 12 dias para *I. ohioensis* e de 9 a 14 dias para *I. canis*. Da mesma maneira que as vísceras de suínos podem atuar como fonte de infecção de cães com *I. ohioensis* e *I. canis*. Estes autores também esclarecem que as vísceras de marrecos podem conter estágios infectantes de *I. ohioensis*.

O período pré-patente de *I. ohioensis* e *I. canis* em cães que foram alimentados com vísceras de suíno e de marreco foi semelhante a aquele encontrado por HILALI et al. (1992), onde os cães foram alimentados com vísceras de ovelha e camelo (ZAYED & EL-GHAYSH, 1998).

Os picos de eliminação de oocistos de *I. ohioensis* (1600 OoPG) e *I. canis* (3200 OoPG) pelos cães que se alimentaram de suínos foi maior que daqueles cães que se alimentaram com pato e búfalo (ZAYED & EL-GHAYSH, 1998).

2.4.5 Fatores associados a hábitos alimentares

Preconiza-se como um dos mecanismos favoráveis à disseminação de doenças entre os animais descriminados como animais de açougue, o comércio (importação e exportação), bem como os deslocamentos para os matadouros, feiras, exposições, que aumentam a probabilidade de transmissão das doenças de caráter zoonótico ou não, além daquelas que também possuem grande importância econômica na produção. Outro fator de relevância a ser considerado são os hábitos alimentares praticados por uma população, ou isoladamente por grupos de indivíduos (GERMANO, 1982).

A neurocisticercose, causada pelo *C. cellulosae* que está presente em músculos de suínos, é diagnosticada em centenas de pessoas nos EUA todos os anos. Quase todos os pacientes são imigrantes ou viajantes do México e de outras áreas endêmicas para esta doença (SCHANTZ & McAULEY, 1991).

A prevalência e os fatores de riscos para infecção por *Taenia solium* (cisticercose) em suínos foram estudadas em uma comunidade rural no Estado de Michoacan, México. A inspeção visual de 216 línguas revelou 6,5% de cisticercos (*C. cellulosae*). A prevalência foi um pouco maior nos machos (10/105) que nas fêmeas (4/110) e aumentava de acordo com a idade. O principal fator de risco para a infecção de suínos foi o acesso as fezes humanas que se encontrava ao redor da casa do criador. O método mais efetivo e mais duradouro de evitar a transmissão de *T. solium* de humanos para suínos deve incluir não deixar estes terem acesso as fezes de humanos, uma mudança que tem uma certa resistência devido aos aspectos tradicionais e funcionais que estabelecem as práticas de criação desses animais (GUTIERREZ et al., 1992).

A incidência crescente da cisticercose no Brasil é um fenômeno que está associado ao mesmo fenômeno que ocorre em todo o mundo. Hoje esta é a parasitose mais freqüentemente encontrada no sistema nervoso. Este aumento deve-se à falta de saneamento e a ausência de fossas no meio rural, o que contribui para a poluição do

meio ambiente, além de acabar sendo comuns os casos em que os animais acabam consumindo fezes humanas. No Paraná, um dos Estados com maior incidência de cisticercose no Brasil entre 1980 a 1993, houve um aumento na incidência de neurocisticercose de 5,3% para 9,25% nos exames realizados (ABCS, 2002).

No passado, o consumo de carne ou peixe mal cozidos ou crus era associado com culturas e práticas específicas, porém com as mudanças na preferência de consumo, aumento de viagens internacionais, exportação de alimentos e hábitos alimentares cosmopolitas, as que antes eram consideradas doenças raras estão, agora, aumentando seu reconhecimento (SLIFKO et al., 2000). Uma revisão recente das doenças e mortes relacionadas com alimentação nos EUA relata que uma estimativa de 2,5 milhões (7%) das doenças transmitidas por alimentação foram causadas por parasitos (300.000, 2.000.000 e 225.000 por *C. parvum*, *Giardia duodenalis* e *T. gondii* respectivamente), todas com implicações zoonóticas (MEAD et al., 1999).

Toxoplasmose é uma das três maiores causas de doenças transmitidas por alimentação nos EUA. Estima-se que 50% dos casos é devido a transmissão de *Toxoplasma* pelo alimento, e esta é uma das cinco doenças infecciosas que causam mais de 90% das mortes relacionadas com alimentação (MEAD et al., 1999).

É notável que a natureza da doença de origem alimentar está mudando. Apesar dos avanços tecnológicos como a pasteurização e as embalagens apropriadas terem controlado ou eliminado algumas doenças, novos casos estão sendo identificados e podem aumentar em importância no futuro, e o *Toxoplasma* é claramente um destes (THOMPSON, 2001).

A sanidade da produção melhorou drasticamente em virtude desses avanços nas instalações e manejo, existindo inclusive granjas livres de patógenos específicos (SPF). Infelizmente, como a moderna evolução é um processo em que nem todas as pessoas se adaptam, a suinocultura moderna e eficiente, ainda convive com a criação de porcos que não possui a mentalidade melhorista da modernidade e que serve para a manutenção dos tabus da era porco tipo banha (ABSC, 2002).

2.5 Digestão Péptica

A digestão enzimática de vísceras contendo cistos de coccídios tem sido amplamente utilizada (MARKUS 1976 e 1978; FRENKEL, 1977; FAYER & FRENKEL, 1979; DUBEY, 1979b e 1998; BRÖSIGKE, 1981; SPEER, 1983; e FREIRE & LOPES, 1995). JACOBS et al. (1960) descreveu o procedimento da técnica de digestão péptica para recuperar *T. gondii* de tecidos musculares.

MEHLHORN & MARKUS (1976) ao estudarem hipnozoítas de *C. felis* em tecidos à microscopia eletrônica, observaram que após dois dias da infecção havia presença de cistos monozóicos característicos no fígado e baço, sugerindo a existência de uma via sangüínea. Apesar disto, estes autores não conseguiram evidenciar hipnozoítas no sangue circulante dos animais parasitados.

BRÖSIGKE et al. (1982) ao estudarem a distribuição de hipnozoítas de *C. rivolta* em camundongos albinos consideraram que $2,9 \times 10^4$ hipnozoítas detectados aos 28° DAI, seria a maior quantidade de cistos monozóicos extra-intestinais detectada. Estes autores também verificaram um aumento na quantidade de hipnozoítas recuperados aos 7° e aos 28° DAI, caindo progressivamente até os 168° DAI, quando registraram $1,6 \times 10^4$ hipnozoítas. Embora as diferenças numéricas possam estar relacionadas modalidade de digestão enzimática empregada, a quantificação global de hipnozoítas de *C. felis* sugere um ciclo biológico mais acelerado do que aquele

empreendido por *C. rivolta*. O maior número de hipnozoítas de *C. felis* foram recuperados em, aproximadamente 10 dias, enquanto que para *C. rivolta*, proporções semelhantes foram descritas somente aos 28° DAI.

Para a evidenciação destas formas extraintestinais, a digestão enzimática tem sido amplamente utilizada para a detecção de zoítas e cistos. Dentre as enzimas, a tripsina foi bastante utilizada por eliminar associações celulares, destruindo células parenquimatosas e, consequentemente, liberando formas infectantes dos cistos intracelulares (DUBEY & FRENKEL, 1972; FRENKEL & DUBEY, 1972; BRÖSIGKE, 1981; BRÖSIGKE et al., 1982). Este procedimento tem sido utilizado para obtenção e estudo de formas intrateciduais de vários coccídios do gênero *Cystoisospora*. Os hipnozoítas de *C. canis*, *C. burrowsi*, *C. laidanini*, *C. felis* e *C. rivolta* foram avaliados, tanto quantitativamente quanto qualitativamente, após obtenção a partir da digestão tríptica de vísceras infectadas (BRÖSIGKE, 1981; HEINE, 1981; BRÖSIGKE et al., 1982; LOSS, 1984).

FREIRE & LOPES (1995) verificaram que para se recuperar os hipnozoítas de *C. felis* de órgãos infectados de camundongos, a digestão péptica foi superior a digestão tríptica em qualidade, porém em ambas os hipnozoítas se mantiveram viáveis por pelo menos duas horas.

A técnica de digestão péptica foi melhorada, com a neutralização do ácido clorídrico, através do bicarbonato de sódio, diminuindo o tempo do processo, sem no entanto interferir na sua eficiência (DUBEY, 1998).

Embora as características morfológicas de *C. felis* tenham sido amplamente estudadas (DUBEY & FRENKEL, 1972; FRENKEL & DUBEY, 1972; DUBEY, 1979b), praticamente nada se conhece em relação à sua distribuição no organismo de hospedeiros infectados.

A recuperação destes zoítas vivos quantificados pela absorção da laranja de acridina, com emissão de luz verde amarela sob radiação ultravioleta, mostrou viabilidade entre 98 e 100%, para os organismos recuperados a partir da digestão péptica das vísceras. Este fato demonstra que o processo de digestão utilizado praticamente não interferiu nas características biológicas vitais das formas parasitárias obtidas (FREIRE & LOPES, 1995).

Além disto, FREIRE & LOPES (1996) estudaram a distribuição de hipnozoítas de *C. felis* em camundongos albinos experimentalmente infectados e observaram que os linfonodos mesentéricos, baço e fígado são os principais alvos de colonização para estes protozoários. A placa de Peyer apresentou a maior quantidade de hipnozoítas (40% do total) no 3° DAI e esta quantidade decresceu progressivamente até o fim do experimento. Os linfonodos mesentéricos obtiveram entre os dias 8° e 16° DAI 91,5% e 51,8% dos hipnozoítas recuperados respectivamente. Embora o baço tenha originado entre 20 e 40% do total de hipnozoítas quantificados durante todo o experimento, o fígado apresentou-se intensamente parasitado a partir do 21° DAI com 43,7 %, quando passou a representar a víscera de eleição. Como a partir do 21° DAI o fígado, o baço e os linfonodos mesentéricos tiveram a maior concentração de hipnozoítas recuperados, e a possibilidade de haver uma distribuição pelas vias sanguínea e linfática é enfatizada.

Estes autores (1996) também observaram hipnozoítas de *C. felis* nos rins, pulmões ou coração dos animais infectados, porém relacionaram esta presença de uma via accidental de distribuição do parasita, não sendo estes os órgãos pelos quais possuem maior tropismo. Com base nestes dados pode-se deduzir que, tanto *C. felis* como *C. rivolta*, distribuem-se pelas vias sanguíneas e linfática, porém não o fazem nas mesmas proporções. O tropismo e distribuição relativos à *C. felis* parecem estar mais

intensamente relacionados à via sangüínea no organismo de hospedeiros intermediários.

COSTA & LOPES (1998) observaram que os coelhos mestiços tipo carne, inoculados com 10^6 oocistos de *C. felis*, quando comparados com os animais do grupo controle, com alimentação ad libitum, tiveram comprometido seu ganho de peso durante os 29 dias de avaliação do ganho ponderal, com menor desenvolvimento das massas musculares, principalmente de cortes nobres como lombo e coxas, isto devido, talvez, a anorexia que se seguiu à infecção, fato já mencionado por LOSS (1991). De outro modo, ao compará-los com o grupo de animais que receberam alimentação controlada, também verificaram que, em realidade, a perda no ganho de peso dos animais inoculados manifestou-se nas três primeiras semanas do experimento, superando-se na última semana.

Os mesmos autores (1998) descrevem a distribuição dos hipnozoítas de *C. felis* nas vísceras de coelhos inoculados teve, em ordem decrescente, tropismo pelos intestinos, linfonodos mesentéricos, fígado, baço e placa de Peyer a partir do 2º DAI. Os linfonodos mesentéricos tiveram maior número de hipnozoítas recuperados a partir do 4º DAI até a segunda semana do experimento. O fígado teve a sua maior proporção de formas parasitárias nos 2º DAI e 4º DAI. No baço foram observados na primeira semana da infecção (4º DAI). A placa de Peyer obteve seu maior número nos 4º e 6º DAI.

BRÖSIGKE (1981), observou que *C. rivolta* possui um maior tropismo pelos linfonodos mesentéricos no 2º, 4º, 168º DAI, sendo o fígado, por sua vez, o órgão de predileção somente no 3º e 7º DAI.

OLIVEIRA (2001) observou que na infecção experimental de camundongos com *C. ohioensis* os hipnozoítas puderam ser recuperados pela digestão péptica dos órgãos intestino delgado, intestino grosso, placa de Peyer, linfonodos mesentéricos e baço. Durante todo o experimento e principalmente no 1º DAI o baço foi positivo para a presença do parasita, o que indicou a provável via hematogênica de distribuição deste. Nos intestino delgado e intestino grosso foi possível recuperar hipnozoítas do 1º DAI até o 14º DAI, e nos linfonodos mesentéricos e baço em todos os DAI analisados. Entretanto no 35º DAI observa-se uma baixa considerável no número absoluto de hipnozoítas recuperados dos linfonodos mesentéricos e baço, concomitantemente há diminuição relativa no isolamento do linfonodo mesentérico e um aumento relativo no baço. A diminuição do número relativo de recuperação de hipnozoítas da placa de Peyer e linfonodos mesentéricos e aumento no baço podem ser provavelmente, pela migração do parasita pela via linfática e, a diminuição absoluta no total de hipnozoítas nos órgãos durante a evolução do ciclo no hospedeiro, também observado e discutido na avaliação do peso das vísceras. O baço foi observado como órgão alvo do *C. ohioensis* no camundongo.

2.6 Importância da Suinocultura no Brasil e no Mundo

Com base em suas origens, todas as raças de suínos domésticos conhecidas atualmente, podem ser associadas a três grandes espécies: *Sus scrofa*, *S. vittatus* e *S. mediterraneus*. Estes animais podem ser utilizados de várias formas pelo homem. Além da produção de gêneros alimentícios, várias partes dos seus organismos são usadas pela medicina humana devido a sua semelhança com o organismo do homem. São também fonte de substâncias vitais à vida do homem. Como exemplo de substâncias usadas pela medicina humana, é da mucosa intestinal de suínos que se obtém a heparina, que é essencial para o tratamento dos casos de trombose (ABCS, 2002).

A América do Sul possuía em 1999 um rebanho ligeiramente superior a 59 milhões de cabeças. Esta quantidade representava 6,17% do rebanho mundial de suínos.

Quanto à produção de carne suína, neste mesmo ano, esta foi responsável por 2.8 milhões de toneladas, que representava 3,2% do total produzido do mundo. Ainda em 1999 o Brasil foi considerado a sétima potência mundial do setor, possuindo 60% do plantel e 62% da carne produzida mundialmente. Este possuía 37.000.000 de cabeças e uma produção de 1.940.000 toneladas de carne que representava 2,13% da produção mundial (ACSURS, 2000).

A carne suína e os produtos industrializados desta no Brasil são consumidos basicamente pelo mercado interno, com muito pouca exportação, esta ficando em torno de 6,5% da produção brasileira. O consumo interno é aproximadamente de 30% de carne inatura e 70% de carne industrializada, o que faz elevar os preços e frear o consumo. Na Europa ao contrário, são consumidos 70% inatura e 30% industrializada. O consumo *per capita* brasileiro de carne suína é de 10,71 kg/hab/ano, enquanto que a média no mundo é de 14,52 Kg/hab/ano e na Europa, acima de 40 Kg/hab/ano. A região Sudeste do Brasil apresenta um consumo per capita de 15,4 Kg/hab/ano (ABCS, 2002).

No ano de 2000, foi realizado no Brasil o abate de suínos sob inspeção do SIF com valores de 19.483.265 cabeças e quando não havia a fiscalização do SIF estes valores foram de 5.428.162 cabeças. O consumo interno foi de 1.838.123 toneladas de carne suína. O consumo per capita foi de 10,844 Kg/hab (ABIPECS, 2000).

Estes valores de consumo per capita são realmente expressivos e faz a carne suína ocupar, com destaque, o primeiro lugar na preferência da população, dando-lhe o título de “a carne mais consumida no mundo”. Em 1999 o consumo de carne de frango ocupou o segundo lugar com 10,61 Kg/hab e a bovina ficou em terceiro, com 9,7 Kg/hab. Nos anos de 1995 a 1999 a produção mundial de carne suína cresceu de 12%, sendo que no Brasil houve um crescimento de 22,3% (ACSURS, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Coccídios e Coccidioses da Estação Experimental para Pesquisa Parasitológica W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (U.F. Rural RJ.), Seropédica, Rio de Janeiro.

3.1 Origem dos Animais

3.1.1 Procedência dos gatos naturalmente infectados com *Cystoisospora felis*

Foram obtidos cinco gatos filhotes, com aproximadamente um mês de idade e sem raça definida, que viviam em áreas peridomiciliares no Município de Seropédica, localizado no Estado do Rio de Janeiro.

Estes gatos foram levados a Estação Experimental para Pesquisa Parasitológica W. O. Neitz, com a finalidade de se verificar a infecção natural por *C. felis* nestes animais.

Após a detecção da presença de oocistos de *C. felis* nas fezes destes animais, estas foram coletadas e processadas diariamente a fim de juntar um número suficiente de oocistos para realizar, posteriormente, a infecção experimental de suínos com este protozoário.

Estes gatos foram mantidos individualmente em gaiolas desinfetadas previamente, e sem contato com o chão da baia. Esta baia telada, também foi desinfetada, através de vassoura de fogo e cloro em proporção 1:5. Foi administrada diariamente ração própria para a espécie (Le roy®) e água fresca ad libitum.

3.1.2 Procedência dos suínos

Oito suínos recém desmamados, com aproximadamente dois meses de idade e da raça Large White, foram comprados do Setor de Suinocultura do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Estes animais foram mantidos na Estação Experimental para Pesquisa Parasitológica, em duas baías que os separavam em dois grupos, cada grupo contendo quatro animais, onde os animais de um destes grupos foram infectados com um inóculo de $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados de *C. felis* e os animais do outro grupo foram mantidos como controle, livres de infecção. Foram administrados diariamente água e uma mistura de farelos de trigo e milho *ad libitum*.

3.2 Procedimentos Laboratoriais

3.2.1 Obtenção de oocistos esporulados de *Cystoisospora felis* e preparação de inóculos para posterior infecção de suínos.

O diagnóstico da infecção natural dos gatos foi realizado por técnica de pesquisa de oocistos descrita por MENEZES (1994).

Estas fezes, positivas para presença do parasito, foram maceradas e homogeneizadas com água destilada e em seguida filtradas em tamis com gazes dobradas. O filtrado foi, então, submetido a esporulação em dicromato de potássio a 2,5% por 48 horas com o auxílio de uma bomba de aeração, em temperatura ambiente com a finalidade de acelerar a esporulação dos oocistos. Após esporulados, os oocistos foram concentrados e limpos através de três a quatro centrifugações (200G por 10 minutos) em tubos de centrifuga de 50 mL até obter um material fecal sem dicromato de potássio. Com a finalidade de se obter um material sem resíduos, o “pelet” presente no tubo de centrifuga, na última centrifugação, foi homogeneizado com solução saturada de açúcar, ressuspensionado, e novamente centrifugado a 200G por dez minutos. Após esta centrifugação, o sobrenadante foi colocado em uma placa de petri com 14 cm de diâmetro e neste acrescentado mais solução de açúcar até formar um menisco convergente.

Então, foi depositado sobre o menisco a parte externa da tampa de 15 cm de diâmetro desta mesma placa de petri, de modo que se formasse uma interface entre a tampa e o menisco convergente da solução saturada de açúcar. Após cada intervalo de 15 minutos, durante uma hora, removia-se a placa de cima para que a parte externa fosse lavada, com o auxílio de uma seringa de dez mL acoplada a uma agulha hipodérmica, com uma solução tampão salina fosfato (PBS) pH 7,2. A solução de oocistos esporulados, obtida das lavagens com o PBS, foi colocada em recipientes de vidros previamente esterilizados.

As lavagens acima citadas resultaram em uma solução final contendo 1300 mL de PBS com oocistos de esporulados de *C. felis*. A quantificação destes oocistos esporulados nesta solução foi realizada através de cinco contagens.

Entre lâmina e lamínula foram depositados 20 µL desta solução para realização das quantificações. Foi observado que nesta quantidade (20 µL) havia 1.400 oocistos, em cada contagem. Tendo, portanto, em cada mL 70.000 oocistos de *C. felis*. Estes oocistos foram separados em alíquotas de cinco mL que continham $3,5 \times 10^5$ oocistos de *C. felis* para realizar a infecção experimental dos suínos. Estas alíquotas eram acrescentadas de uma solução de antibiótico de 1000 UI/mL de Penicilina G Potássica e 100 g/mL de Streptomicina e armazenadas em geladeira a 4°C.

3.3 Infecção Experimental dos Suínos com Oocistos Esporulados de *Cystoisospora felis*

Cada suíno do grupo infectado foi inoculado por via oral, com o auxílio de uma sonda oro-gástrica, com um inóculo de cinco mL contendo $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados de *C. felis*. Da mesma maneira os suínos do grupo controle receberam cinco mL de solução fisiológica neste mesmo momento.

Os animais dos dois grupos foram acompanhados diariamente para se observar alterações no seu comportamento ou clínicas que pudessem estar relacionadas com a infecção pelo *C. felis*. Diariamente também foi mensurada, com um termômetro digital, a temperatura corporal destes animais, com a finalidade de verificar possíveis alterações originadas pela infecção.

Nos 3°, 7°, 14° e 33° dias após infecção (DAI) foram realizadas necropsias de dois suínos, um animal de cada grupo, em cada dia. O abate de cada animal foi realizado através de dessensibilização por contusão cerebral e posterior jugulação sangrenta, conforme a metodologia empregada pelo Serviço de Inspeção Brasileiro.

Durante a evisceração foram retirados de cada animal os intestinos delgado e grosso, placa de Peyer, linfonodos mesentéricos, fígado e baço para posterior realização de digestão péptica (DUBEY, 1998).

Foram também avaliados o aspecto, viscosidade, textura, coloração e odor destas vísceras, com o intuito de se observar qualquer alteração que pudesse estar relacionada com o parasitismo pelo *C. felis*.

3.4 Digestão Péptica

A digestão péptica foi realizada através de uma adaptação da técnica de DUBEY (1998), onde este autor recupera cistos de *T. gondii* de tecidos musculares de animais infectados.

Após a retirada das vísceras (intestino delgado, intestino grosso, placa de Peyer, linfonodos mesentéricos, fígado e baço) dos suínos dos grupos controle e infectado, estas foram pesadas em balança de precisão METTLER PE 360 e processadas individualmente.

Estas vísceras foram trituradas em MIX BRAUN HANDBLENDER MR310 - Brasil, e eram retiradas amostras de 10 gramas de cada órgão, onde se adicionava 200 mL de pepsina (SIGMA, St. Louis - Estados Unidos da América) ácida com atividade de ensaio de 1:3.000 (2,6 g, NaCl 5,0 g, HCl 7,0 mL, e diluído até o volume de 500 mL, pH ~ 1,10-1,20) recém preparada e pré-aquecida a 37°C por 60 minutos em uma câmara com agitação (CÂMARA MODELO 346 - FANEM - São Paulo - Brasil).

Após a digestão destes tecidos, o homogeneizado da solução de pepsina com o macerado do órgão foi filtrado em tamis com gazes dobradas. Em seguida este filtrado foi centrifugado a 200G por dez minutos em tubos de plástico de centrífuga de 50 O sobrenadante era desprezado e o “pelet” ressuspensionado em dez mL de solução tampão (PBS pH ~ 7,2). A neutralização foi feita com a adição de oito mL de bicarbonato de sódio a 1,2% (pH ~ 8,3%), preparado no dia de uso.

O material neutralizado com bicarbonato de sódio foi centrifugado a 200G por 10 minutos. Posteriormente desprezou-se o sobrenadante, e o “pelet” ressuspensionado com um pequeno volume (0,5 a 2,5 mL) de PBS e gluteraldeído a 2,5% para a fixação do material digerido, à exceção do fígado que foi ressuspensionado em um maior volume de PBS (dez mL) por ter um maior volume de tecido parenquimatoso digerido a ser ressuspensionado.

Com o material fixado foi possível avaliar a infecção dos órgãos processados posteriormente, ao se retirar uma alíquota de dez μ L deste material e colocar entre lâmina e lamínula para visualização em um microscópio (JENAPOL, Carl Zeiss - Antiga República Democrática Alemã) de contraste de fase.

3.5 Quantificação dos Hipnozoítas

O número de hipnozoítas presentes nos órgãos dos animais do grupo infectado submetidos a digestão péptica foi estabelecido de acordo com a metodologia descrita por BRÖSIGKE (1981) para *C. rivolta*, com ligeira modificação.

Alíquotas de dez μ L de suspensão de hipnozoítas, presentes na alíquota do tecido digerido, era colocada entre lâmina e lamínula e observadas em microscópio de contraste de fase e o número de hipnozoítas foi obtido pela seguinte fórmula:

$$H = n \cdot 100 \cdot v$$

Onde H é o número de hipnozoítas contidos para cada dez gramas do órgão digerido, n é o número de hipnozoítas contidos na alíquota de dez μ L, 100 é a correção para 1000 μ L e v o volume total da amostra.

3.6 Morfometria

A microscopia foi realizada com o auxílio de ocular micrométrica PZO-S Polônia em microscópio Leitz modelo H.M.Lutz, Polônia. Foram mensurados cinco hipnozoítas de cada órgão e de cada dia após a infecção. Para facilitar as mensurações dos diâmetros maior e menor, os hipnozoítas foram fixados em gluteraldeído a 2,5% (GLUTERALDEIDO - SIGMA, St. Louis, Estados Unidos da América) (FGT). Através deste procedimento, impediu-se a movimentação dos mesmos e manteve-se a forma original dos estágios intracelulares de *C. felis*.

3.7 Análise Estatística

Os dados das temperaturas corporais mensuradas nos suínos dos grupos infectado e controle foram analisados estatisticamente pelo teste T de “Student”, com o auxílio do programa estatístico Graph Pad Instat, Copyright 1990-1994, Graph Pad Software v2-05 a 9504225.

Foram mensurados 5 hipnozoítas de cada órgão e de cada dia após a infecção. Estas medidas foram analisadas estatisticamente através do teste de comparação múltipla Tukey-Kramer, com o auxílio do programa estatístico Graph Pad Instat, Copyright 1990-1994, Graph Pad Software v2-05 a 9504225.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do acompanhamento clínico diário dos suínos pertencentes ao grupo controle e ao grupo infectado, foi possível observar que estes animais não tiveram alterações clínicas visíveis como alterações de comportamento, dor a palpação abdominal e anorexia.

Outro parâmetro analisado foi a temperatura corporal dos animais dos dois grupos entre si. Através do teste T de “Student” foi verificado que não houve diferença significativa entre as médias das temperaturas corporais mensuradas nos dois grupos aos 3° DAI quando o valor de P é igual a 0,4236; aos 7° DAI quando o valor de é P=0,3005, aos 14° DAI com P=0,1036 e aos 33° DAI com P= 0,3237. Portanto a infecção experimental de suínos com oocistos esporulados de *C. felis* se caracterizada como subclínica, sem transparecer qualquer sinal de patologia originada pela infecção com o parasito. Na Tabela 1 pode ser observada as médias de temperaturas corporais dos animais durante o experimento.

Tabela 1 - Média da temperatura corporal dos suínos infectados com $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados de *Cystoisospora felis*.

GRUPO	DIAS APÓS A INFECÇÃO			
	3°	7°	14°	33°
INFECTADO	39,01 ± 0,39	38,93 ± 0,57	38,89 ± 0,46	38,58 ± 0,65
CONTROLE	39,32 ± 0,45	38,68 ± 0,71	38,49 ± 0,66	38,53 ± 0,60

Nos animais abatidos nos 3°, 7°, 14° e 33° DAI não foi possível observar alterações macroscópicas em suas carcaças.

As vísceras retiradas (intestinos delgado e grosso, placa de Peyer, linfonodos mesentéricos, fígado e baço) dos grupos controle e infectado foram analisadas macroscopicamente. Nos animais do grupo controle, estas vísceras nunca tiveram qualquer alteração aparente. Já no animal do grupo infectado observou-se que a placa de Peyer, ao 3° DAI, apresentou com pequena tumefação e criptas marcadamente acentuadas (Figura 1). Aos 7° e 14° DAI não houve qualquer alteração nas vísceras que pudessem ser vistas macroscopicamente. No suíno necropsiado ao 33° DAI os linfonodos mesentéricos estavam hipertrofiados quando comparados aos do controle e o intestino grosso tinha algumas áreas avermelhadas que se estendiam da porção central até o final deste segmento.



Figura 1 - Segmento do intestino delgado (íleo) de suíno, com tumefação da placa de Peyer no suíno infectado com oocistos de *Cystoisospora felis* (A), em comparação com o segmento deste mesmo órgão do suíno controle (B), ao 3º dia após infecção.

Não foi possível avaliar possíveis alterações nos pesos destas vísceras, visto que os animais tinham pesos e sexos diferentes no momento que foram obtidos do Setor de Suinocultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, o que levaria a resultados que não demonstrariam a real influência do parasitismo nestas.

LOSS & LOPES (1992a) observaram haver um comprometimento no ganho de peso de camundongos, submetidos a infecções experimentais com oocistos de *C. felis* eliminados nas fezes de gatos. COSTA & LOPES (1994), de maneira similar, observaram reação semelhante em coelhos infectados com esta parasitose.

A identificação do hipnozoíta de *C. felis* nas vísceras dos suínos infectados foi realizada através do isolamento do parasito pela técnica de digestão péptica. Este apresentou formato comparado ao de uma banana (Figura 2), da mesma forma descrita por FREIRE & LOPES (1996) e por COSTA & LOPES (1998).

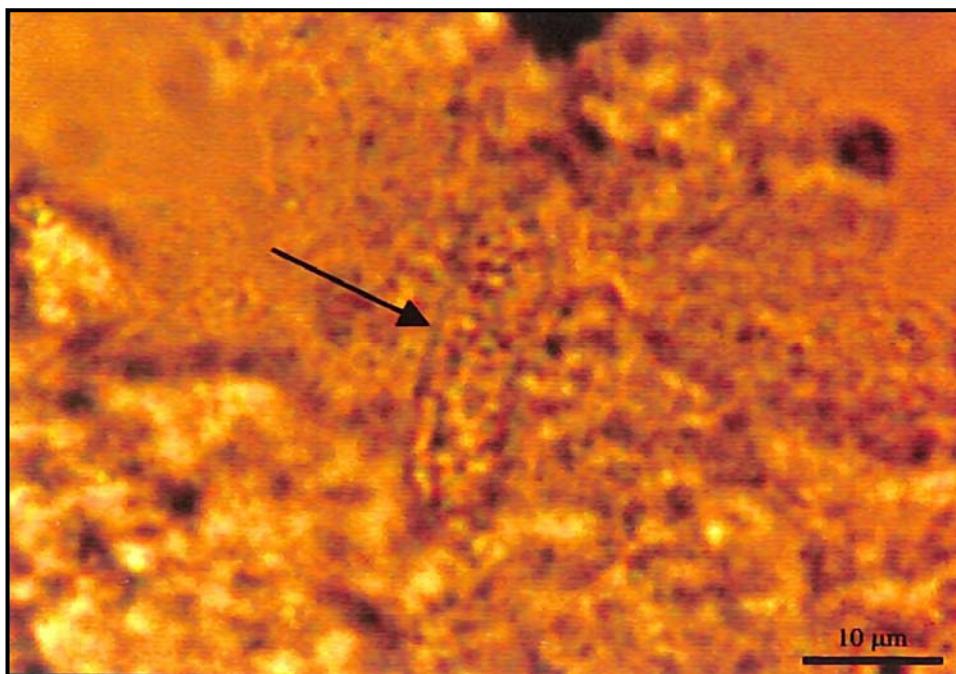


Figura 2 - Hipnozoíta de *Cystoisospora felis* (→) isolado através de digestão péptica de linfonodos mesentéricos de suíno no 3º dias após infecção.

Quanto à distribuição dos hipnozoítas nestas vísceras, o grupo de suínos controle não foi observado o parasita, porém no grupo de suínos infectados foi observado que somente o intestino delgado, baço e os linfonodos mesentéricos foram positivos para a presença de hipnozoítas em todos os dias de necropsia. A placa de Peyer apresentou-se positiva desde o 7º DAI, porém sem descartar a possibilidade de se encontrar parasitas no 3º DAI, visto que o material processado deste tecido, neste dia, não foi analisado pois o mesmo teve que ser descartado devido a equívoco durante o processamento. O fígado foi positivo do 7º DAI até o 33º DAI. Das amostras analisadas de intestino grosso não foi possível observar a presença de hipnozoítas neste órgão durante todos os dias após a infecção (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição de hipnozoítas de *Cystoisospora felis* em suínos pertencentes ao grupo experimentalmente infectado com $3,5 \times 10^5$ oocistos esporulados e ao grupo controle.

VÍSCERAS	DIAS APÓS A INOCULAÇÃO							
	3°		7°		14°		33°	
	C ^a	I ^b	C ^a	I ^b	C ^a	I ^b	C ^a	I ^b
Intestino Delgado	-	+	-	+	-	+	-	+
Intestino Grosso	-	-	-	-	-	-	-	-
Placa de Peyer	-	*	-	+	-	+	-	+
Linfonodo Mesentérico	-	+	-	+	-	+	-	+
Fígado	-	-	-	+	-	+	-	+
Baço	-	+	-	+	-	+	-	+

* Não analisado

^a Controle

^b Infectado

Isto demonstra que após a liberação do esporozoíta no intestino delgado ocorre a formação, inicialmente, de cistos monozóicos e hipnozoítas de *C. felis* neste órgão além de começar o ciclo extraintestinal. Este ciclo tem início no baço e linfonodos, que são órgãos com função protetora no organismo do animal.

De cada órgão e de cada dia após infecção foram mensurados os diâmetros maior e menor de 5 hipnozoítas e estas medidas foram analisadas estatisticamente através do teste de comparação múltipla Tukey-Kramer, onde se observaram algumas diferenças nos parasitas de acordo com o órgão e o DAI (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Médias das medidas de diâmetro maior dos hipnozoítas de *Cystoisospora felis* presentes em vísceras de suínos infectados com 3,5x10⁵ oocistos esporulados provenientes de gatos naturalmente infectados.

DIAS APÓS A INFECÇÃO	VÍSCERAS					BAÇO
	INTESTINO DELGADO	LINFONODOS MESENTÉRICOS	PLACA DE PEYER	FÍGADO	BAÇO	
3º	17,18 ± 0,15 ^A	14,21 ± 0,37 ^{a,A}	*	N	14,29 ± 0,32 ^{a,A}	
7º	17,42 ± 0,95 ^{a,A}	17,23 ± 1,01 ^{a,B}	15,50 ± 0,4 ^A	18,16 ± 0,41 ^a	17,57 ± 0,32 ^{a,B}	
14º	14,70 ± 0,34 ^{a,b,B}	13,62 ± 0,3 ^{b,a}	15,46 ± 0,15 ^{a,c,A}	15,34 ± 0,23 ^{c,A}	16,99 ± 0,76 ^B	
33º	15,52 ± 0,19 ^{a,B}	16,32 ± 0,41 ^{a,1,B}	15,66 ± 0,40 ^{a,A}	15,90 ± 0,69 ^{a,A}	14,83 ± 0,33 ^{a,1,A}	

^{A, B, C} Letras maiúsculas iguais, sem diferença estatística ($p \geq 0,05$), comparando duas médias em mesma víscera, em diferentes dias após infecção. Letras maiúsculas diferentes ou ausência de letras, com diferença estatística ($p \leq 0,01$), comparando duas médias em mesma víscera em diferentes dias após infecção.

^{a, b, c} Letras minúsculas iguais, sem diferença estatística ($p \geq 0,05$), comparando médias entre duas vísceras em mesmo dia após a infecção. Letras minúsculas diferentes ou ausência de letras, com diferença estatística ($p \leq 0,01$), comparando médias entre duas vísceras em mesmo dia após a infecção.

^{1, 2} Números diferentes que demonstram diferença estatística ($p \leq 0,01$) entre médias de duas vísceras em mesmo dia após a infecção, porém comparando vísceras diferentes.

* Órgão não pesquisado.

^N Órgão negativo para presença de hipnozoítas

Tabela 4 - Médias das medidas de diâmetro menor dos hipnozoítas de *Cystoisospora felis* presentes em vísceras de suínos infectados com 3,5 X 10⁵ oocistos esporulados provenientes de gatos naturalmente infectados.

DIAS APÓS A INFECÇÃO	VÍSCERAS					BAÇO
	INTESTINO DELGADO	LINFONODOS MESENTÉRICOS	PLACA DE PEYER	FÍGADO		
3º	5,2 ± 0,16 ^{a,A}	4,10 ± 0,32 ^{b,A}	*	N		5,52 ± 0,46 ^{a,A}
7º	5,46 ± 0,50 ^{a,A}	5,25 ± 0,43 ^a	5,54 ± 0,26 ^{a,A}	5,90 ± 0,26 ^{a,A}		5,46 ± 0,36 ^{a,A}
14º	4,93 ± 0,64 ^{a,A}	5,09 ± 0,27 ^{a,B}	5,06 ± 0,19 ^{a,A}	5,02 ± 0,31 ^{a,B}		5,6 ± 0,27 ^{a,A}
33º	5,06 ± 0,28 ^{a,A}	5,02 ± 0,25 ^{a,B}	5,41 ± 0,31 ^{a,A}	4,91 ± 0,32 ^B		4,82 ± 0,13 ^{a,A}

^{A, B} Letras maiúsculas iguais ou ausência de letras, sem diferença estatística ($p \geq 0,05$), comparando duas médias em mesma víscera e em dias a após infecção diferentes. Letras maiúsculas diferentes, com diferença estatística ($p \leq 0,01$), comparando duas médias em mesma víscera e em dias após infecção diferentes.

^{a, b} Letras minúsculas iguais, sem diferença estatística ($p \geq 0,05$), comparando duas médias de vísceras diferentes, em mesmo dia após infecção. Letras minúsculas diferentes, com diferença estatística ($p \leq 0,01$), comparando duas médias de vísceras diferentes, em mesmo dia após infecção.

* Órgão não pesquisado.

N Órgão negativo para presença de hipnozoítas

As medidas obtidas no presente trabalho, encontradas nos 14º e 33º DAI em intestino delgado e em fígado; nos 3º, 14º e 33º DAI em linfonodos mesentéricos e em baço; e nos 7º, 14º e 33º DAI em placa de Peyer são semelhantes à média total das medidas de diâmetro maior e de diâmetro menor de hipnozoítas, isolados em vísceras de coelhos mestiços tipo carne, realizadas por COSTA & LOPES (1998), nos diferentes dias após a infecção, que foi de $14,51 \pm 2,40$ x $4,77 \pm 1,50$ μm .

Através da análise estatística das médias das medidas de diâmetro maior dos hipnozoítas de *C. felis* em diferentes vísceras de suínos, porém em mesmo DAI, é possível observar que no 3º DAI, somente não tiveram diferença estatística significativa na comparação entre as medidas dos hipnozoítas presentes nos baço e linfonodos mesentéricos. No 7º DAI, somente foi possível observar diferença estatística significativa nas comparações entre as medidas de hipnozoítas isolados em placa de Peyer com as medidas dos hipnozoítas isolados nas outras vísceras. No 14º DAI, as comparações entre as medidas de hipnozoítas presentes em intestinos delgado e placa de Peyer, intestino delgado e linfonodos mesentéricos, fígado e placa de Peyer não tiveram diferença estatística significativa entre si. No 33º DAI, as comparações entre as medidas de hipnozoítas presentes em baço e intestino delgado, baço e fígado, baço e placa de Peyer, intestinos delgado e fígado, intestino delgado e linfonodos mesentéricos, intestino delgado e placa de Peyer, fígado e linfonodos mesentéricos, fígado e placa de Peyer, e entre linfonodos mesentéricos e placa de Peyer não tiveram diferença estatística significativa entre si.

Através da análise estatísticas das médias das medidas de diâmetro maior dos hipnozoítas presentes em cada víscera individualmente, porém em dias após infecção diferentes, foi possível observar que o baço não teve diferença significativa na comparação entre as medidas dos hipnozoítas isolados no 3º e 7º DAI, e entre os 7º e 14º DAI. O intestino delgado não teve diferença significativa na comparação entre as medidas obtidas nos 3º e o 14º DAI, e entre as medidas obtidas nos 14º e 33º DAI. O figado foi a única víscera que teve diferença significativa na comparação entre as medidas dos hipnozoítas isolados nos diferentes DAI. As medidas dos hipnozoítas isolados nos linfonodos mesentéricos, quando comparadas entre si nos 3º e 14º DAI, e nos 7º e 33º DAI, não tiveram diferença significativa. As medidas dos hipnozoítas isolados na placa de Peyer, quando comparadas entre si, não tiveram diferença significativa.

Porém ao se comparar às medidas de diâmetro maior dos hipnozoítas isolados em diferentes vísceras, e em diferentes DAI, é possível observar que existem muitas medidas, que comparadas entre si, possuem diferença significativa determinada pela localização do parasito e pelo período pós infecção.

Na comparação das medidas de diâmetro menor dos hipnozoítas de *C. felis* presentes em vísceras de suínos, em mesmo DAI, poucas foram as diferenças estatísticas significativas. No 3º DAI a comparação entre as medidas de hipnozoítas presentes em baço e linfonodos mesentéricos, e intestino delgado e linfonodos mesentéricos apresentaram diferença estatística significativa. As medidas dos hipnozoítas presentes nas diferentes vísceras, quando comparadas nos 7º DAI, 14º DAI e 33º DAI, individualmente, não tiveram diferença estatística.

Pela análise das medidas de diâmetro menor dos hipnozoítas isolados em cada víscera individualmente, porém em diferentes DAI, foi possível verificar que o baço, a placa de Peyer e o intestino delgado não tiveram diferença significativa quando comparadas nos diferentes DAI. Portanto nestas vísceras o parasito não teve alteração significativa na sua medida de diâmetro menor durante todo o experimento. Alterações significativas foram observadas na comparação entre as medidas obtidas nos 7º e 14º, e entre o 7º e o 33º DAI no figado. No linfonodo mesentérico estas alterações significativas foram observadas na comparação entre as medidas dos hipnozoítas isolados nos 3º e 7º DAI, e nos 3º e 14º DAI.

Através destes resultados é notório que as medidas de diâmetro menor tiveram menores alterações significativas quando se comparou as medidas obtidas em cada víscera, em cada DAI, entre si. Isto demonstra que o parasito, durante o seu desenvolvimento no hospedeiro intermediário, tem uma menor variação no seu diâmetro menor que no diâmetro maior.

Na Tabela 5 foi estimado o número total de hipnozoítas de *C. felis* em cada órgão pela quantificação destes em cada 10 gramas de órgão. Nestes números se encontrou uma distribuição um tanto quanto irregular, que variava quanto ao órgão e quanto ao DAI. O intestino delgado foi observado no 3º DAI com um número grande de hipnozoítas (2000), porém este diminuiu drasticamente no 7º DAI (150). A partir do 14º DAI este número voltou a crescer (340) até quase atingir seus valores iniciais no 33º DAI (1500). Os linfonodos mesentéricos também tiveram uma queda no número de parasitas presentes neste órgão aos 7º e 33º DAI, onde no 3º DAI tinha 1500 hipnozoítas e no 7º passou a ter 188, no 14º DAI já tinha 920 e aos 33º DAI este número chegou a 500 hipnozoítas. Na placa de Peyer foi observado um equilíbrio nestes valores nos 7º e 14º DAI, ambos com 175 hipnozoítas, e aos 33º DAI tinha 750 hipnozoítas. O figado apresentou um aumento no número de hipnozoítas presentes neste órgão com o

avançar da infecção, demonstrando o tropismo do parasito pela víscera. No 7º DAI este tinha 560 hipnozoítas, no 14º DAI este número chegou a 875 hipnozoítas e nos 33º DAI tinha 1500 hipnozoítas. O mesmo acontecendo com o baço, porém com valores maiores que os do fígado. No 3º DAI este órgão tinha 1500 hipnozoítas, porém este número diminuiu no 7º DAI para 740 hipnozoítas. No 14º DAI este número voltou a crescer a 2520 hipnozoítas e no 33º DAI tinha 4800 hipnozoítas.

Tabela 5 - Estimativa da quantidade de hipnozoítas de *Cystoisospora felis* isolados em peso total das vísceras dos suínos infectados experimentalmente.

Dias Apóis Infecção	ÓRGÃOS					
	Intestino delgado	Intestino grosso	Linfonodos mesentéricos	Placa de Peyer	Fígado	Baço
3º	2.000	0	1.500	*	0	1.500
7º	150	0	188	175	560	740
14º	340	0	920	175	875	2.520
33º	1.500	0	500	750	1.500	4.800

* Não analisado

FREIRE & LOPES (1996) verificaram que a espécie *C. felis* apresenta um ciclo biológico mais acelerado do que aquele empreendido por *C. rivolta*. O maior número de hipnozoítas de *C. felis* foram recuperados em aproximadamente 10 dias, enquanto que para *C. rivolta*, proporções semelhantes foram descritas aos 28º DAI. Através do isolamento de *C. felis* em vísceras de camundongos albinos infectados experimentalmente; o baço originou entre 20% e 40% do total de hipnozoítas quantificados durante o experimento. No entanto o fígado apresentou-se intensamente parasitado a partir do 21º DAI, quando passou a representar a víscera de eleição. A partir do 21º DAI o fígado, o baço e os linfonodos mesentéricos apresentaram a maior concentração de hipnozoítas recuperados, o que reforça a possibilidade de uma via sanguínea, além da via linfática de disseminação do parasita.

No presente trabalho somente o fígado e o baço tiveram a maior quantificação de hipnozoítas do 14º ao 33º DAI, de forma semelhante ao descrito anteriormente, assim reforçando a premissa de haver uma via sanguínea e linfática auxiliando na dispersão do parasito no hospedeiro intermediário.

COSTA (1993) ao avaliar a infecção de coelhos do tipo carne com *C. felis* através da recuperação dos hipnozoítas em suas vísceras, verificou que a maior quantidade de hipnozoítas foi observada nos 2º e 4º DAI, sendo que as vísceras que tiveram maior tropismo quantitativamente, em ordem decrescente, foram intestinos, linfonodos mesentéricos, fígado, baço e placas de Peyer.

PARTE 2 - INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE GATOS COM VÍSCERAS DE SUÍNOS INFECTADOS COM *Cystoisospora felis*

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Infecção de Gatos com *Cystoisospora felis*

ANDREWS (1926) produziu infecções artificiais por *I. felis* em gatos com quatro semanas de idade e verificou que os gatos infectados com menos de 10^5 oocistos esporulados, inoculados por via oral com auxílio de uma sonda orogástrica, sobreviveram e quando a infecção realizada era maior estes animais morriam em uma semana.

O ciclo de vida assexuado do parasita consiste de três gerações de esquizontes (SHAH, 1971).

A primeira geração de esquizontes começa pela entrada de esporozoítas nas células epiteliais intestinais, sendo observados primeiramente após 24 horas da inoculação. Ambos os esporozoítas e esquizontes primários são envolvidos por uma área clara que é chamada de vacúolo. Esquizontes maduros e completos com merozoítas formados começaram a aparecer às 72 horas após a inoculação, mas o maior número destes são observados às 96 horas e uma pequena quantidade às 120 horas após a inoculação. A maioria dos estágios encontrados em gatos sacrificados no final de três dias de infecção era de esquizontes de primeira geração maduros e imaturos. Poucos esquizontes de segunda geração foram observados. Nem todos os merozoítas de primeira geração penetraram nas células do hospedeiro no mesmo momento e nem se desenvolveram em mesma quantidade. Muitos poucos merozoítas de primeira geração passaram para o segundo ciclo assexuado, consequentemente as fases iniciais da segunda geração assexual ocorre no terceiro dia do ciclo de vida deste parasito. As 120 horas, a segunda geração de esquizontes foi observada contendo 2, 4, 6, 8 e até 10 estruturas unicelulares com forma fusiforme, lembrando a primeira geração de merozoítas, com as mesmas medidas. Os estágios evolutivos de segunda geração estavam predominantes em relação a primeira geração. Porém no 6º DAI a predominância é de formas evolutivas do ciclo assexuado da segunda geração. O núcleo da célula parasitada foi deslocado para porção basal direita da célula. Um esquizonte de segunda geração maduro com vinte e quatro ou mais merozoítas leva ao aumento da célula epitelial invadida. Quanto ao 7º DAI se encontraram oocistos na mucosa e fezes dos gatos sacrificados. Estágios sexuais neste momento são de difícil distinção entre microgametócitos e macrogametócitos nas secções intestinais observadas do intestino delgado (HITCHCOCK, 1955).

O mesmo autor (1955) verificou que o maior número de microgametócitos maduros e macrogametócitos foi observado às 192 horas e às 216 horas após a inoculação foi observado o menor número. Os macrogametas jovens têm a mesma forma que os merozoítas de terceira geração. No desenvolvimento do macrogameta este se torna ovóide ou elipsoidal. Os microgametócitos retem a mesma forma do merozoita de terceira geração.

Com a fertilização do macrogameta pelo microgameta, é formada internamente uma parede oocística, e posteriormente os oocistos não esporulados são liberados, junto

com as fezes. Espécies de *Cystoisospora* do cão e gato podem esporular de 8 a 12 horas após a excreção (DUBEY, 1992).

ANDREWS (1926) relatou um período pré-patente de cinco ou seis dias. Já HITCHCOCK (1955) verificou um período pré-patente de sete a oito dias e o período de patência de 10 a 11 dias.

SHAH (1971) descreveu que estágios de desenvolvimento endógeno de *C. felis* foram encontrados no íleo, embora alguns coccídios podem ser encontrados também no duodeno e jejuno (especialmente a segunda geração de esquizontes e gametas). Nenhum parasito foi encontrado no ceco, cólon e outros órgãos.

Aproximadamente 28.902.200 oocistos foram eliminados durante o período de 10 dias. Os oocistos alcançaram o pico de eliminação no sexto dia do período de patência e começou a declinar substancialmente no sétimo dia. Este número se tornou mínimo no décimo dia e desaparecendo a partir do décimo primeiro dia SHAH (1971).

DUBEY & FRENKEL (1972) e DUBEY (1979a), além de elucidarem o ciclo, identificaram duas possíveis fontes de infecção de felinos com as espécies *C. felis* Wenyon, 1923 e *C. rivolta* Grassi, 1879.

Estes animais podem adquirir a infecção pela ingestão de oocistos esporulados ou pela ingestão de hospedeiros intermediários infectados previamente com oocistos esporulados. Estes hipnozoítas saem destas células, ultrapassam a parede intestinal e invadem os tecidos extra-intestinais, especialmente, linfonodos mesentéricos, fígado, baço, músculo e cérebro. Nestes tecidos, o hipnozoíta aumenta de tamanho e é envolvido por uma fina parede cística de tecido conjuntivo, sendo então nomeados de cistos monozóicos. Quando a infecção se dá pela ingestão do hospedeiro intermediário pelo hospedeiro definitivo, estes hipnozoítas encistados são liberados pelo processo de digestão, iniciando, assim, o ciclo de vida parasitária de evolução igual ao descrito anteriormente, porém com um período pré-patente menor (DUBEY, 1992a).

Os felinos são hospedeiros definitivos de *C. felis* e *C. rivolta*. Estas espécies possuem como hospedeiros intermediários camundongos, ratos, cobaias, cães, coelhos, bovinos e pássaros (DUBEY, 1975; SMITH, 1981; FREIRE & LOPES, 1996; COSTA & LOPES, 1998).

Os oocistos de *I. canis* (=*C. canis*) Nemeséri, 1960 e *I. felis* (=*C. felis*) Wenyon, 1923 são estruturalmente similar. Estes eram considerados comuns a cães e gatos até NEMESÉRI (1959) separá-los. Porém, alguns trabalhos verificaram que a ingestão de *I. felis* por cães não resulta na produção de oocistos, portanto, os cães podem ser hospedeiros intermediários da *I. felis* de gatos e o camundongo é hospedeiro intermediário para *I. canis* (DUBEY, 1975; SHAH, 1970).

As formas latentes, cistozoítas, em tecidos extra-intestinais dos hospedeiros (FRENKEL & DUBEY, 1972) não só lhes tem assegurado a sobrevivência, mas também se constituem em importante meio de dispersão desses parasitos. Estas formas permanecem infectantes por até 15 meses (MARKUS, 1976). Segundo FAYER (1980), após a morte do animal as formas latentes de *Cystoisospora* podem permanecer infectantes por várias semanas, conforme foi demonstrado também para *T. gondii* (KEAN et al., 1969) e *Sarcocystis* (FAYER, 1975).

1.2 Caracterização da Infecção por *Cystoisospora felis*

Os coccídios do gênero *Cystoisospora* são encontrados principalmente no trato digestivo de animais jovens, que se infectam pela ingestão de oocistos esporulados no

meio ambiente e pela ingestão de cistos presentes nas vísceras dos hospedeiros intermediários, previamente infectados (DUBEY & MEHLHORN, 1978).

A infecção por *C. felis* e *C. rivolta* em felinos pode ser diagnosticada a partir da caracterização dos oocistos nas fezes, feita por WENYON (1923), quando descreveu a espécie *C. felis*. Para ser diagnosticada é necessário encontrar os oocistos durante o exame microscópico (LEVINE, 1985) ou a presença de formas evolutivas do parasita em raspados de mucosa na fase aguda da infecção (LOSS & LOPES, 1992b). Rigorosa diferenciação de oocistos de coccídios intestinal, em amostras fecais, requer micrometria para um seguro diagnóstico (GEORGI & GEORGI, 1992).

CHRISTEE et al. (1976) avaliaram a prevalência de coccídios em gatos que viviam em abrigos de seres humanos, em Ohio, EUA. As fezes de 1000 gatos foram pesquisadas e nestas se verificou positividade em 0,2% para *Sarcocystis* sp., 0,9% para *Toxoplasma-simile*; 6,2% para *I. felis* e 3,2% para *I. rivolta*. Este achado da maior freqüência de *I. felis* e *I. rivolta*, que de outros coccídios, nas fezes de felinos foi também observado por outros pesquisadores nos EUA.

COLLINS et al. (1983) analisaram as fezes de 71 gatos através de flotação e verificaram presença de *Isospora* em 4,2% destas e positividade em 1,4% para *Sarcocystis*.

1.3 Patogenicidade da Espécie *Cystoisospora felis*

Sobre a patogenicidade de *C. felis* e *C. rivolta* para felinos, há controvérsias na literatura. Embora há muito tempo sejam considerados como patogênicos, até hoje raros são os trabalhos que os relatam como causadores de diarréia em felinos (EUZEBY, 1980). A maioria dos trabalhos experimentais relaciona estudos da biologia e não têm verificado ou relatado sua relação com o aparecimento de diarréia ou patogenicidade (KIRKPATRIC & DUBEY, 1987).

A infecção mais freqüente parece ser a causada por oocistos e possivelmente a partir das mães, que portadoras de infecção crônica inaparente podem, muito cedo, infectar seus filhotes (GUIMARÃES & LAGE, 1973), ou então quando estes animais tiverem contato com o solo, contaminado previamente com oocistos (FAYER & REID, 1982). Porém, o grande número de hospedeiros intermediários (BOSH et al., 1981), como também a permanência em tecido linfóide extraintestinal de felinos, amplia a possibilidade de dispersão em algumas espécies do gênero *Cystoisospora* (DUBEY, 1975).

Além do confinamento, o número de oocistos produzidos pode ser afetado pelo potencial de multiplicação da espécie de coccídio, a resistência do hospedeiro, a competição com outras espécies de parasitos e com outros agentes, a nutrição do hospedeiro e até mesmo o efeito de drogas utilizadas pelo hospedeiro no tratamento curativo ou profilático (FAYER, 1980). Por outro lado, DAVIS (1973) relacionou o tamanho da superfície da mucosa intestinal com a idade do animal, onde esta, mais a dose utilizada na infecção, seriam as responsáveis pela produção de oocistos, principalmente em animais sensíveis. Quanto à presença de oocistos em exames de rotina, foi verificada uma maior prevalência de oocistos de *C. felis* em relação a *C. rivolta* relacionados a gatos com idades entre 3 a 5 anos (NICHOL et al., 1981).

LOSS (1991) verificou que durante o exame diário de fezes, tanto de gatos jovens como de adultos, que estes não eliminavam oocistos nas fezes diariamente, mas sim de forma irregular, demonstrando que, apesar de serem portadores de *C. felis* e

C. rivolta, a eliminação não foi constante para todos os animais. Independentemente da idade, aqueles que adquiriram a infecção em condições naturais ou mesmo em animais criados em laboratório, foi observado que o confinamento ou a desmama, foram fatores que favoreceram a eliminação de oocistos por aqueles que eram portadores e que tinham sido negativos ao exame de fezes nos primeiros dias, tanto para *C. felis* quanto para *C. rivolta*.

1.4 Controle e Tratamento da Coccidiose em Cães e Gatos

As drogas utilizadas no controle da coccidiose felina ou canina estão representadas pela experiência de médicos veterinários especializados em clínica veterinária de pequenos animais. Desta maneira, poucas são as referências assinaladas em estudos da infecção experimental. A sulfadimetoxina na dose de 12,5 a 25 mg/kg de peso vivo foi capaz de curar em 14 dias a infecção por *I. bigemina* (=*C. felis*) e *I. canis* (=*C. canis*) em cães (FISH et al., 1965). FAYER & REID (1982) relacionaram a pouca literatura a respeito, tendo em vista que as coccidioses canina e felina têm sido consideradas como pouco patogênicas, até em animais jovens.

Para *I. rivolta* (=*C. rivolta*) dos gatos, MATSUI et al. (1977) observaram ser a sulfamometoxina efetiva como profilática. Para *I. felis* (=*C. felis*), WILKINSON (1977) observou que a sulfadimetoxina foi bem efetiva. No entanto, SHEFIELD & MELTON (1976) observaram que a utilização da sulfadiazina associada à pirimetamina não foi capaz de inibir a produção de oocistos em gatos infectados experimentalmente. Além disso, DUBEY & YEARY (1977) observaram que nem os níveis tóxicos de pirimetamina-sulfadiazina, do SDDS (2-sulfamoyl-4,4'-diaminodifenilsulfona) e da clindamicina foram capazes de suprir a eliminação de oocistos de *T. gondii* por gatos quando infectados experimentalmente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Coccídios e Coccidioses da Estação Experimental para Pesquisa Parasitológica W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (U.F.Rural R.J.), Seropédica, Rio de Janeiro.

2.1 Obtenção de Oocistos de *Cystoisospora felis*

Oocistos de *C. felis* foram obtidos de fezes de gatos naturalmente infectados provenientes do Município de Seropédica, Rio de Janeiro. Os oocistos utilizados na infecção de suínos, também foram utilizados para preparar a alíquota de 106 oocistos de *C. felis* para posterior infecção do gato filhote e do leitão.

As fezes foram diluídas com água destilada e filtrada em tamis com tela de gaze dobrada. Os oocistos presentes no filtrado foram submetidos a esporulação com dicromato de potássio a 2,5%, em proporção de 1:9 respectivamente, com o auxílio de bomba de aeração e sob temperatura ambiente, por 48 horas. Após esporulados, estes oocistos foram concentrados e limpos através de 3 a 4 centrifugações (200G por 10 minutos) em tubos de centrifuga de plástico de 20 mL, até obter um material fecal sem dicromato de potássio. O “pelet” que continha os oocistos de *C. felis* foi quantificado em câmara hemocitométrica e separado em alíquotas de 106 oocistos/mL em tubos de Eppendorff A estas alíquotas foram acrescentadas de uma solução de antibiótico de 1000 UI/mL de Penicilina G Potássica e 100 g/mL de Estreptomicina e armazenadas em geladeira a 4°C.

Este inóculo foi utilizado em um gato filhote como controle da infectividade dos oocistos de *C. felis* e para posterior comparação desta infecção com a originada pelas vísceras dos suínos nos outros gatos.

2.2 Origem dos Animais

2.2.1 Gatos criados em laboratórios para experimentação

Foi adquirida uma gata grávida no Município de Seropédica, Rio de Janeiro, que foi mantida em baia telada de 9,5 m² e previamente desinfetada com o uso de vassoura de fogo e cloro na proporção de 1:5. As fezes desta gata foram avaliadas parasitologicamente através da técnica de centrifugo-flutuação, descrita por MENEZES (1994). Estas não continham formas evolutivas de coccídios ou de helmintos.

Durante todo o experimento os animais receberam água e ração própria para gatos (Le roy®) *ad libitum*.

Com a finalidade de se obter filhotes livres de infecção por coccídios esta gata foi tratada com uma associação de sulfadiazina e trimetropim (TRIBISSEN® - 400 mg/mL de SULFADIAZINA e 80 mg/mL de TRIMETOPRIM), no terço final da gestação, por sete dias consecutivos, com uma dosagem de 30 mg/Kg e 6 mg/Kg, respectivamente, por via subcutânea. Nos dias anteriores ao parto foram executados exames de fezes pela técnica acima citada, onde se verificou que esta gata não estava

eliminando oocistos de coccídios. Os filhotes em número de quatro, oriundos desta gestação foram utilizados no experimento posteriormente.

Quando atingiram a idade de 21 dias estes filhotes e mais a sua mãe foram vermifugados, recebendo um reforço após 21 dias. O vermífugo utilizado na primeira vermiculação foi uma associação de pamoato de pirantel com pamoato de oxantel, respectivamente nas doses de 10 mg/Kg e 15 mg/Kg (BASKEN® suspensão - 14,5 mg/mL de pamoato de pirantel e 9,5 mg/mL de pamoato de oxantel) e na segunda, uma associação de pamoato de pirantel com praziquantel na dose base de 5 mg/Kg (PRAPI® suspensão - 10 mg/mL de praziquantel de 28,8 mg/mL de pirantel).

2.2.2 Suíno

Um leitão com aproximadamente 60 dias e da raça Large White, obtido no setor de suinocultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, devidamente vermiculado e vacinado para Cólera Suína, Pneumonia Enzoótica, Ruiva Suína e Salmonelose foi mantido em uma baia individual coberta, porém tendo acesso ao sol. Foram administradas diariamente água e uma mistura de farelos de trigo e milho ad libitum, evitando assim o uso de ração comercial com adição de coccidiostáticos.

2.3 Infecção Experimental de Suíno com Oocistos Esporulados de *Cystoisospora felis*

O leitão foi inoculado por via oral, com o auxílio de uma sonda oro-gástrica, com uma solução purificada contendo 106 oocistos esporulados de *C. felis*. O abate ocorrido no 33º DAI através de dessensibilização por contusão cerebral e posterior jugulação sangrenta, conforme a metodologia empregada pelo Serviço de Inspeção Brasileiro. Após o abate foram retirados deste animal o baço, o fígado e os linfonodos mesentéricos, que posteriormente foram pesados e submetidos a Trituração e homogeneização para serem administrados aos gatos.

2.4 Bioprosa dos Filhotes de Gatos com Oocistos e Visceras de Suínos com Hipnozoítas de *Cystoisospora felis*

Os quatro filhotes de gatos foram desmamados aos 60 dias de idade e acondicionados em gaiolas suspensas, individualizadas, desinfetadas previamente com vassoura de fogo e cloro. Estas gaiolas foram instaladas em baías cobertas, a uma altura de 1,20 m do chão, de modo que os gatinhos não recebessem incidência direta do sol. Durante a adaptação, de uma semana, dos gatos, foram realizados exames parasitológicos das fezes através da técnica de centrifugo-flutuação, descrita por MENEZES (1994). Nestes exames não foi constatada a presença de coccídios nas fezes destes animais. Estes gatos foram infectados com *C. felis* após esta semana de adaptação às gaiolas.

O primeiro gato foi infectado com oocistos, e recebeu um inóculo de 106 oocistos de *C. felis*, por via oral. O segundo filhote foi infectado com fígado e recebeu 10 gramas do total do fígado triturado do suíno com hipnozoítas de *C. felis*. O terceiro gato recebeu 10 gramas do baço total triturado do suíno com hipnozoítas de *C. felis*. E o quarto gato recebeu 10 gramas dos linfonodos mesentéricos total triturado do suíno com hipnozoítas de *C. felis*.

As fezes dos quatro filhotes foram pesadas e processadas, diariamente, sempre em mesmo horário, desde o dia da infecção até o dia em que se constatou o fim da eliminação de oocistos de *C. felis* pelos animais.

Após pesadas, uma grama das fezes foram diluídas com água destilada e filtrada em tamis com tela de gaze dobrada. O filtrado foi submetido ao método de centrifugo-flutuação (MENEZES, 1994) para realizar posteriormente o exame por microscópio e poder observar a presença dos oocistos nas fezes dos animais.

Estes dados foram utilizados para quantificação dos oocistos eliminados e na formulação da curva de eliminação destes de acordo com o tipo de infecção.

A partir do primeiro dia de eliminação de oocistos de *C. felis* nas fezes destes animais, estas foram processadas da seguinte forma. Após pesada e separada uma grama destas fezes, esta foi homogeneizada em 100 mL de água destilada e filtrada em tamis com tela de gaze dobrada. Dez mililitros desta solução foram acondicionados em tubo de centrífuga de plástico de 20 mL e posteriormente submetido a centrifugação a 200G por 10 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o pelet ressuspêndido em solução saturada de açúcar até se formar um menisco e este ter contato com a lamínula sobreposta a ele. Esta lamínula permanecia por cinco minutos e posteriormente foi depositada sob lâmina de microscopia, onde os oocistos foram quantificados. O resultado que vem a ser o número de oocistos por lâmina foi multiplicado por dez para que se obtivesse o número de oocistos por grama de fezes (OoPG). O número de oocistos de *C. felis* total eliminado por dia foi obtido após a multiplicação do número de oocistos eliminados por grama de fezes (OoPG) com o peso total de fezes eliminadas naquele dia.

Após a separação da uma grama acima citada, o restante das fezes que não foram utilizadas, foram homogeneizadas e adicionadas de dicromato de potássio a 2,5%, em proporção de 1:9 e a aceleração da esporulação foi estimulada pela utilização de uma bomba de aeração, sob temperatura ambiente. Os oocistos presentes nestas fezes sofriam a esporulação por 48 horas. Após esporulados, estes foram concentrados e limpos através de 3 a 4 centrifugações (200 G por 10 minutos) em tubos de centrifuga de plástico de 15 mL, até obter um material fecal sem dicromato de potássio. O “pelet” que continha os oocistos de *C. felis* foi ressuspêndido com solução saturada de açúcar até se formar um menisco e este ter contato com a lamínula sobreposta a ele. Esta lamínula permanecia por 5 minutos e posteriormente foi depositada sobre lâmina de microscopia, onde os oocistos foram mensurados.

2.5 Análise Estatística

Com medidas de diâmetros maior e menor e índices morfométricos dos oocistos e esporocistos de *C. felis* eliminados pelos gatos infectados com oocistos de *C. felis*, com linfonodos mesentéricos, com baço e com fígado foram analisadas estatisticamente através do teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer, com o auxílio do programa estatístico Graph Pad Instattm, Copyright 1990-1994, Graph Pad Software v2-05 a 9504225.

As curvas de eliminação de oocistos de *C. felis* pelos gatos infectados com oocistos de *C. felis*, com linfonodos mesentéricos, com baço e com fígado foram elaboradas pelo programa EXCEL 2000.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os gatos eliminaram oocistos de *C. felis* poucos dias após a infecção, caracterizando o poder infectante das vísceras do suíno, quando estas contêm hipnozoítas de *C. felis*.

O gato que recebeu o inóculo com 106 oocistos de *C. felis* (Figura 3) teve a função de controle da infectividade dos oocistos para o suíno e de comparação deste tipo de infecção com a infecção por carnivorismo.



Figura 3 - Oocisto esporulado de *Cystoisospora felis*, de gatos naturalmente infectados, em solução saturada de açúcar.

Durante poucos dias em que aconteceu a eliminação dos oocistos deste coccídio nas fezes dos gatos foi observada apenas diarréia, tendo as fezes consistências que variavam desde líquidas a pastosas. Porém, este fato não apresentou correlação com os picos de eliminação dos oocistos nem apresentou alguma regularidade.

O gato que foi infectado com oocistos de *C. felis* por via oral apresentou uma curva de eliminação de oocistos de *C. felis* com três picos de eliminação bem marcantes e mais dois picos com menor expressão no final do período de patência (Figura 4). O seu período pré-patente foi de sete dias, o período de patência foi de 20 dias e o maior pico de eliminação de oocistos ocorreu no 18º DAI. SHAH (1971) verificou que gatos infectados oralmente com oocistos de *C. felis* tiveram um período pré-patente de sete a oito dias, semelhante ao deste experimento, porém o período de patência foi de dez dias.

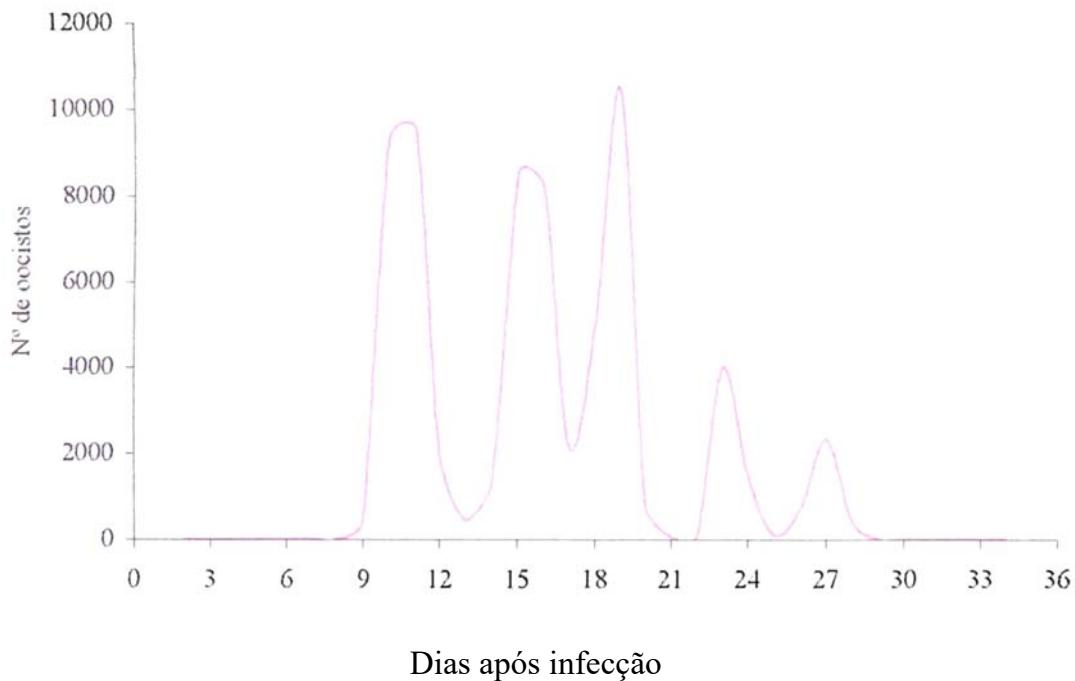


Figura 4 - Eliminação de oocistos de *Cystoisospora felis* de gato experimentalmente infectado, via oral, com 10^6 oocistos esporulados.

O gato infectado com o fígado de suíno infectado previamente com oocistos de *C. felis*, teve uma curva de eliminação de oocistos de *C. felis* com seis picos de eliminação, porém com dois marcantes (Figura 5). O seu período pré-patente foi de seis dias, o período de patência foi de 23 dias e o maior pico de eliminação de oocistos ocorreu com 20º DAI.

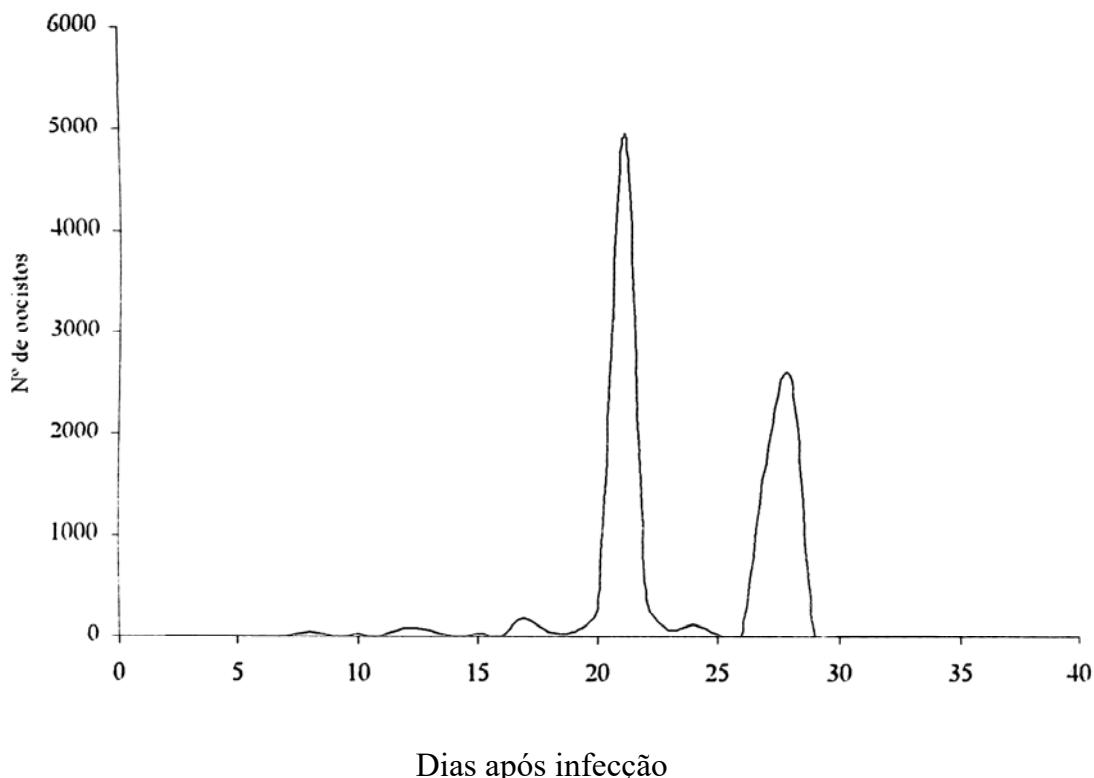


Figura 5 - Eliminação de oocistos de *Cystoisospora felis* de gato alimentado com 10 gramas de fígado de suíno previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.

O gato infectado com o baço de suíno infectado previamente com oocistos de *C. felis* teve uma curva de eliminação com sete picos, porém com cinco marcantes (Figura 6). O seu período pré-patente foi de oito dias, o período de patência foi de 23 dias e o maior pico de eliminação de oocistos ocorreu com 20º DAI.

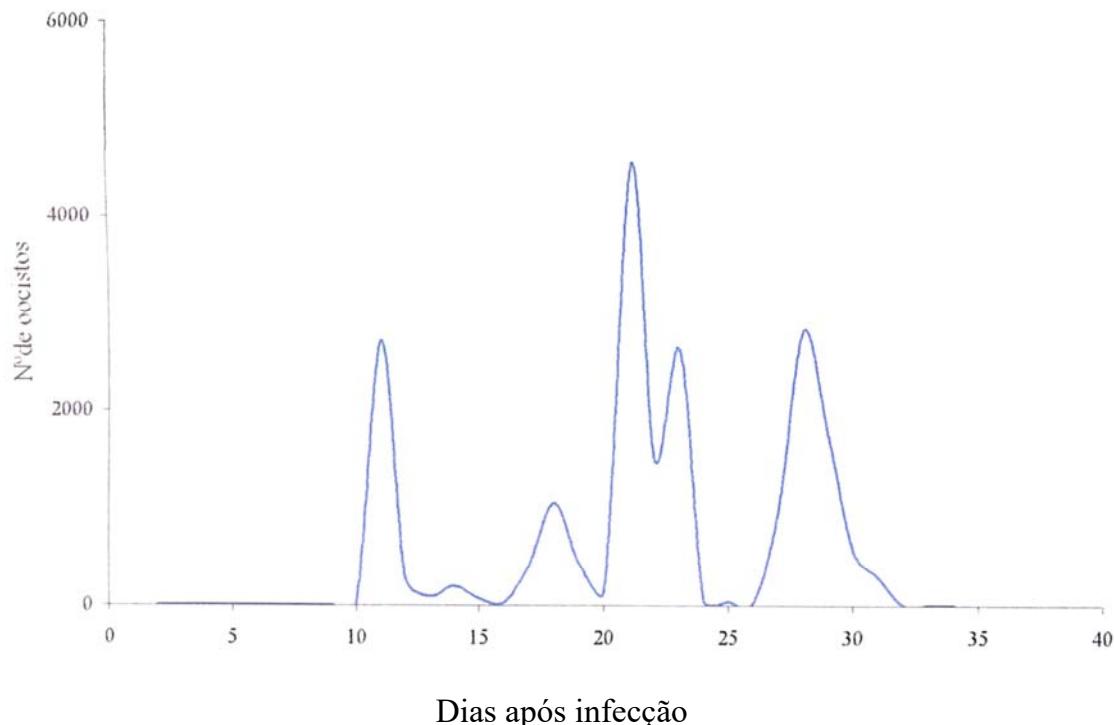


Figura 6 - Eliminação de oocistos de *Cystoisospora felis* de gato alimentado com 10 gramas de baço de suíno previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.

O gato infectado com linfonodos mesentéricos de suínos infectados previamente com oocistos de *C. felis* teve uma curva de eliminação de oocistos de *C. felis* com cinco picos de eliminação, porém com quatro picos marcantes (Figura 7). O seu período pré-patente foi de seis dias, o período de patência foi de 17 dias e o maior pico de eliminação de oocistos ocorreu no 20º DAI.

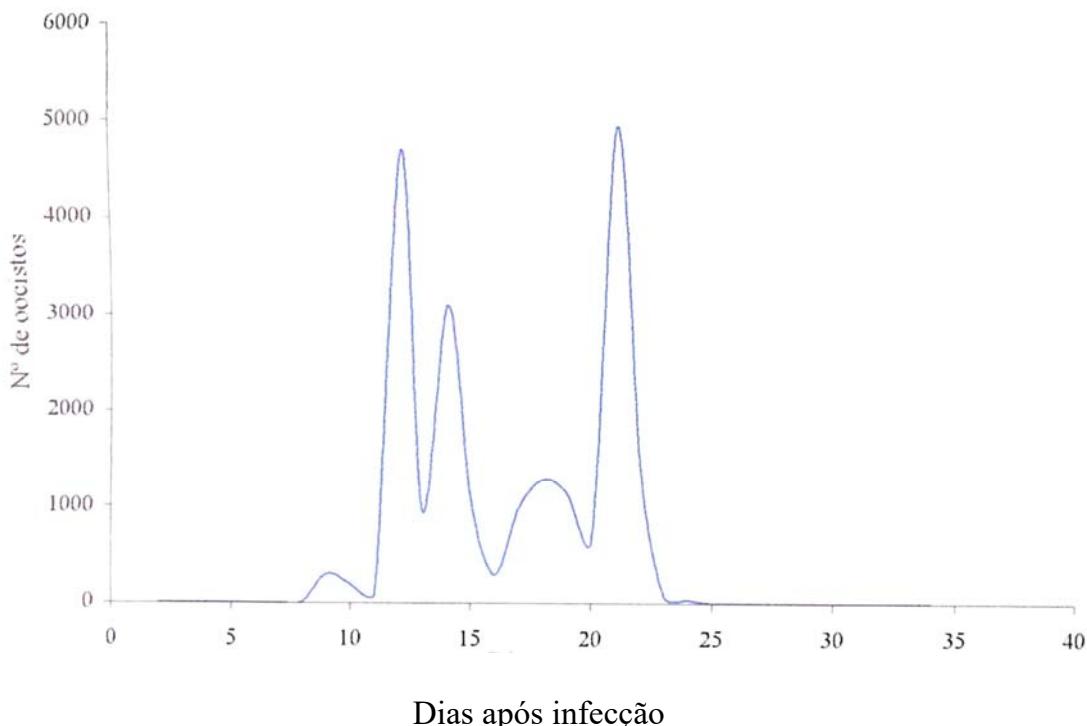


Figura 7 - Eliminação de oocistos de *Cystoisospora felis* de gato alimentado com 10 gramas de linfonodos mesentéricos de suíno previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.

A Figura 8 demonstra a curva de eliminação dos oocistos de *C. felis*, oriundos do gato infectado com oocistos e oriundos do somatório total dos oocistos eliminados pelos gatos alimentados com vísceras de suíno. O maior pico de eliminação ocorreu pela infecção por vísceras de suínos, ao 20º DAI. Até o 20º DAI, os três maiores picos de eliminação de oocistos foi determinado pela infecção por oocistos. A partir deste momento esse quadro se reverte, o somatório de todos os oocistos eliminados pelos gatos alimentados com vísceras determinou os maiores picos de eliminação de oocistos. Ambos os tipos de infecção tiveram cinco picos de eliminação de oocistos de *C. felis* com datas muito próximas entre si.

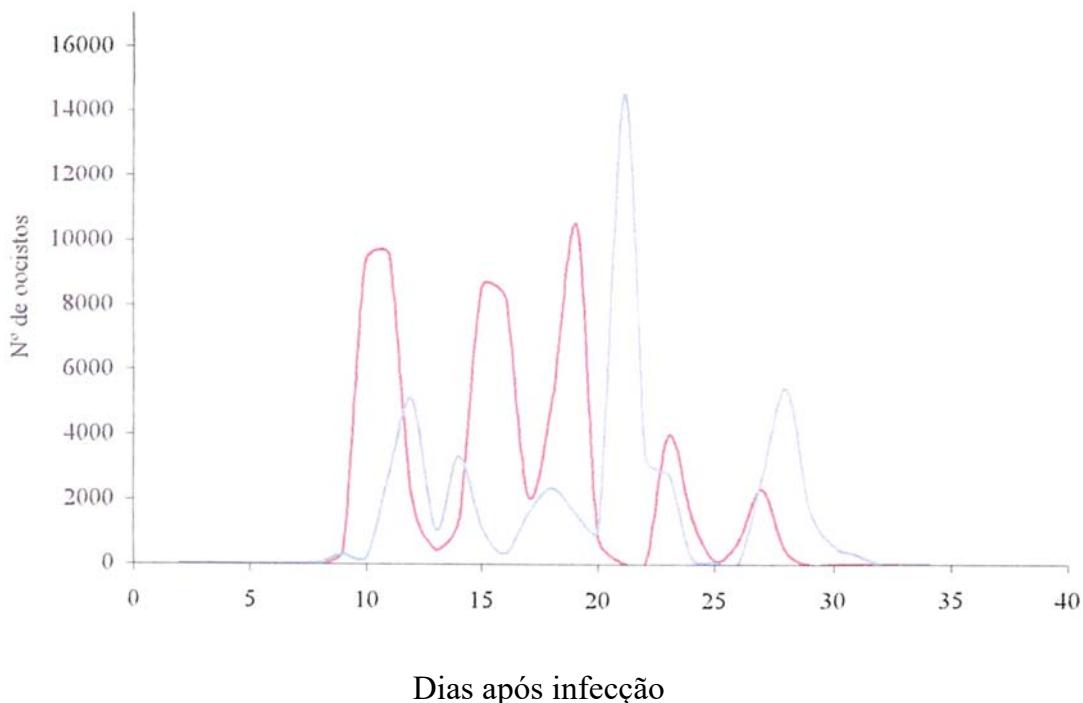


Figura 8 - Comparação das curvas de eliminação do somatório de oocistos de *Cystoisospora felis* eliminados por gatos infectados por oocistos esporulados (—) e eliminados pelos gatos alimentados com fígado, baço e linfonodos mesentéricos (—) de suínos infectados previamente com este parasito.

O fato do maior tropismo do parasito pelo baço determinou um maior disponibilidade de hipnozoítas para infecção do que as outras vísceras. Isto levou a um maior período pré-patente, pelo efeito do fator “crowded”, e de patência, pelo intenso parasitismo. A infecção por fígado e linfonodos mesentéricos disponibilizou uma quantidade de hipnozoítas semelhantes, o que determinou o mesmo período pré-patente, porém com períodos de patência bem variados entre si. Quanto ao maior pico de eliminação de oocistos de *C. felis* pelos gatos, este ocorreu no 20º DAI. A infecção por ingestão de 106 oocistos de *C. felis* teve como período pré-patente sete dias e um período de patência de 20 dias, ambos dentro da variação observada na infecção por visceral. O maior pico de eliminação de oocistos de *C. felis* pelo gato, ocorreu no 18º DAI.

Através de mensuração dos diâmetros maior e menor dos oocistos (Tabela 5) e esporocistos (Tabela 6) de *C. felis* eliminados pelos gatos infectados com baço, fígado e linfonodos mesentéricos de suínos previamente infectados com este parasito foi analisada a morfometria dos oocistos.

Tabela 6 - Médias de medidas de oocistos de *Cystoisospora felis* eliminados por gatos infectados experimentalmente.

Medidas ¹	Oocistos ²	Vísceras ³		
		Baço	Linfonodos Mesentéricos	Fígado
Diâmetro maior	$31,89 \pm 2,46^a$	$37,53 \pm 1,43^b$	$35,80 \pm 1,36^c$	$37,09 \pm 1,03^b$
Diâmetro menor	$23,92 \pm 1,88^a$	$28,79 \pm 1,22^b$	$26,91 \pm 1,92^c$	$27,78 \pm 0,93^d$
Índice Morfométrico	$1,34 \pm 0,09^a$	$1,18 \pm 0,13^b$	$1,15 \pm 0,10^a$	$1,34 \pm 0,05^a$

¹ 100 medidas analisadas

² Gatos infectados com 10^6 oocistos esporulados com *C. felis*.

³ Gatos alimentados com 10g de vísceras de suínos previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.

^a Letras minúsculas iguais, sem diferença estatística ($p \geq 0,05$). Letras minúsculas diferentes, com diferença estatística significativa ($p \leq 0,001$), comparando dados de mesma linha.

Tabela 7 - Médias de medidas de esporocistos de *Cystoisospora felis* eliminados por gatos infectados experimentalmente.

Medidas ¹	Oocistos ²	Vísceras ³		
		Baço	Linfonodos Mesentéricos	Fígado
Diâmetro maior	$17,19 \pm 1,62^c$	$19,34 \pm 1,60^a$	$7,99 \pm 2,18^b$	$19,43 \pm 1,34^a$
Diâmetro menor	$14,68 \pm 1,31^b$	$16,93 \pm 1,26^a$	$15,55 \pm 0,99^c$	$16,81 \pm 1,06^a$
Índice Morfométrico	$1,18 \pm 0,12^a$	$1,14 \pm 0,10^a$	$1,17 \pm 0,10^a$	$1,15 \pm 0,10^a$

¹ 100 medidas analisadas

² Gatos infectados com 10^6 oocistos esporulados com *C. felis*.

³ Gatos alimentados com 10g de vísceras de suínos previamente infectado com 10^6 oocistos esporulados.

^a Letras minúsculas iguais, sem diferença estatística ($p \geq 0,05$). Letras minúsculas diferentes, com diferença estatística significativa ($p \leq 0,001$), comparando dados de mesma linha.

As medidas observadas neste experimento, para os diferentes tipos de infecção, são semelhantes às encontradas por ROCHA & LOPES (1971) em um trabalho de infecção experimental de gatos com oocistos de *C. fens*. Estes autores observaram

medidas de diâmetro maior que variaram de 32,1 μm a 54,5 μm , com média de $39,38 \pm 3,07 \mu\text{m}$ e de diâmetro menor que variaram de 26,2 a 37,2 μm , com média de $30,51 \pm 2,18 \mu\text{m}$. Sendo assim é possível realizar a caracterização dos oocistos no presente experimento como sendo da espécie *C. felis*.

Através da análise estatística pelo teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer das médias das medidas de oocistos e esporocistos de *C. felis* presentes nas Tabela 5 e 6, se verifica que as medidas de diâmetro maior dos oocistos e esporocistos eliminados pelos gatos infectados com fígado de suíno previamente infectado com *C. felis* e com baço de suínos não tiveram diferença significativa entre si. O mesmo ocorrendo quando se compara as medidas de diâmetro menor de esporocistos dos oocistos eliminados por estes animais.

A comparação entre as médias das medidas de diâmetro menor dos oocistos eliminados pelo gato infectado com oocistos de *C. felis*, assim como pelos gatos infectados com as vísceras do suíno tiveram diferença significativa quando comparadas entre si. A medida de diâmetro menor dos esporocistos dos oocistos eliminados pelos gatos infectados, com exceção para a comparação entre as médias das medidas dos eliminados pelos gatos infectados com fígado e baço do suíno, quando comparadas entre si, tiveram diferença significativa.

As comparações das médias das medidas de índice morfométrico dos oocistos eliminados pelos animais infectados com oocistos e fígado de suíno entre si, de oocistos e com linfonodos mesentéricos entre si, e de fígado e com linfonodos mesentéricos

entre si não tiveram diferença estatística. A comparação das medidas de índice morfométrico dos esporocistos eliminados pelos diferentes tipos de infecção não tiveram diferença significativa entre si.

LOSS (1991) verificou que as dimensões dos oocistos de *C. felis* e *C. rivolta* são distintas em função da infecção de gatos com ingestão de vísceras contaminadas, com a ingestão de oocistos e em casos de infecções naturais. Assim como observado neste experimento.

4. CONCLUSÕES

Após revisão e discussão dos resultados obtidos no presente trabalho de pesquisa, pode-se inferir que:

- Os oocistos isolados da infecção de gatos utilizados como doadores dos oocistos deste experimento foram da espécie *C. felis*;
- Experimentalmente, os suínos são considerados hospedeiros intermediários da espécie *C. felis* por albergar hipnozoítas em intestino delgado, baço, fígado, placa de Peyer e linfonodos mesentéricos.
- Os gatos infectados com o fígado, o baço e os linfonodos mesentéricos dos suínos previamente infectado com *C. felis*, eliminaram oocistos deste parasito, sem apresentar sintomas clínicos evidentes da infecção.
- Neste experimento a infecção de suínos com oocistos de *C. felis* provenientes de gatos naturalmente infectados não determinou qualquer sintomatologia clínica nos animais.
- O intestino delgado foi o órgão que apresentou a maior quantidade de hipnozoítas no 3º DAI. A partir do 7º DAI o baço foi o órgão de maior tropismo do parasito.
- A via de infecção dos gatos pode gerar alterações morfométricas nos oocistos e esporocistos, porém não morfológicas.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMARAL, V.; BIRGEL, E.H. Nota sobre a ocorrência de *Isospora bigemina* (Stilles, 1881) Lühe, 1906 em *Canis familiare*s de São Paulo e distribuição geográfica das espécies de *Isospora* em cães e gatos, no Brasil. *Arq. Inst. Biol. S. Paulo.*, v.35, p. 77-81, 1969.

AMARAL, V.; BIRGEL, E.H.; REBOUÇAS, M.M. Ocorrência da *Isospora felis* Wenyon, 1923, em suçuarana (*Puma concolor*). *Rev. Soc. Paul. Med. Vet.*, v.4, p. 25-28, 1966.

ANDREWS, J.M. Coccidiosis in mammals. *Am. J. Hyg.* v. 6, p. 784-798. 1926.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS. www.abcs.com.br, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. Apoio Apex. www.abipecs.com.br, 2000.

ASSOCIAÇÃO DE CRIADORES DE SUÍNOS DO RIO GRANDE DO SUL. Página desenvolvida e mantida por B&W Net. www.acsurs.com.br, 2000.

BARRETO, J.F.; ALMEIDA, J.L., DE. Primeiras observações de *Isospora felis* Wenyon, 1923. (Protozoa: Eimeridia) em felídeos do Brasil. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet.*, v.8, p. 357-360, 1937.

BASTOS, W.D.A. Ocorrência de *Isospora felis* em felinos de Salvador. Bahia. Brasil. *Bol. Inst. Biol. Bahia.*, v.6, p.42-45, 1962-1963.

BECKER, C.H.; HEINE, J.; BOCH, J. Experimentelle *Cystoisospora canis* und *C. ohioensis* infectionen beim hund. *Tierarztl. Umschau*, v.36, p. 336-341, 1981.

BLAGBURN, B.L.; BOOSINGER, T.R.; POWE, T.A. Experimental *Isospora suis* infections in miniature swine. *Vet. Parasita*, v.38, p. 343-347, 1991.

BOMFIM, T.C.B. DO. *Cryptosporidium muris* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em suínos: identificação, diagnóstico e alguns aspectos epidemiológicos. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 79p., 1989.

BOSCH, J.; GOBEL, E.; HEINE, J.; ERBER, M. *Isospora* infectionen bei hund und katze. *Berl. Münch Tierarztl. Wschr.*, v.94, p. 384-391, 1994.

BRÖSIGKE, S. *Untersuchungen an extraintestinalen entwicklungstadien (Dormozoitien) von Cystoisospora rivolta der Katze in der Maus*. Dissert. zur Erlan. Der tiermediz. Dok. Würde der Tierarzt., Muchen, 37p., 1981.

BRÖSIGKE, S.; HEINE, J.; BOCH, J. Der Nachwels extraintestinalen Entwicklungsstadien (Dormozooten) in experimentell mit *Cystoisospora rivolta* oozysten infierten mause. *Kleintier Praxis.*, v. 27, p. 25-34, 1982.

CHRISTENSEN, J.P.B.; HENRIKSEN, S.A. Shedding of oocysts in piglets experimentally infected with *Isospora suis*. *Acta. Vet. Scand.*, v. 35, p. 165-172, 1994.

CHRISTIE, E.; DUBEY, J.P.; PAS, P.W. Prevalence of *Sarcocystis* infection and other intestinal parasitism in cats from a humane shelter in Ohio. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.168, p. 421-422, 1976.

COLLINS, G.H.; EMSLIE, D.R.; FARROW, B.R.; WATSON, A.D. Sporozoa in dogs and cats. *Aust. Vet. J.*, v. 60, p. 289-290, 1983.

COSTA, P. S. DA. *Infecção experimental por Cystoisospora felis (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae): inspeção, avaliação e patologia em coelhos do tipo carne*. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, UFRRJ, 109p., 1993.

COSTA, P. S. DA; LOPES, C.W.G. Hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em vísceras de coelhos. *Rev. Bras. Ci. Vet.*, v.1, p. 35-36, 1994.

COSTA, P. S. DA; LOPES, C.W.G. Avaliação do parasitismo por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em coelhos tipo carne. *Rev. Bras. Vet. Parasitol.*, v.7, p.15-19, 1998.

COUSSEMENT, W.; DUCATELLE, R.; GEERAERTS, G.; BREGHEN, P. Baby pig diarrhea caused by coccidiosis. *Vet. Q.*, v. 3, p. 57-60, 1981.

DAVIS, L.R. Techniques. In: The coccidia. (D. M. Hammond, & P. L. Long eds). *Univ. Park Press, Baltimore.*, 1973, p. 441-458.

DOUGLAS, R.J.; SUNDERMANN, C.A.; LINDSAY, D.S. Effects of route of inoculation on the site of development of *Caiyospora bigenetica* (Apicomplexa: Eimeriidae). *J. Parasitol.*, v.77, p. 755-757, 1991.

DUBEY, J.P. Experimental *Isospora canis* and *Isospora felis* infection in mice, cats and dogs. *J. Protozool.*, v. 22, p. 416-417, 1975.

DUBEY, J.P. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.169, p. 1061-1078, 1976.

DUBEY, J.P. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis*, and other cystforming coccidia of man and animals. In: *Parasitic Protozoa* (J. P. Kreier ed.), vol. 3, p. 101-237, Acad. Press, NY. 1977.

DUBEY, J.P. Life cycle of *Isospora rivolta* (Grassi, 1879) in cats and mice. *J. Protozool.*, v. 26, p. 433-443, 1979a.

DUBEY, J.P. Frequency of *Sarcocystis* in pigs in Ohio and attempted transmission to cats and dogs. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p. 867-868, 1979b.

DUBEY, J.P. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis* and other tissue cyst forming coccidia of man and animals. In: *Protozoa* (J. P. Kreier ed.), N.Y. Acad. Press, v. 6, 1992, p. 120-128.

DUBEY, J.P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissue. *Vet. Parasitol.*, v. 74, p. 75-77, 1998.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Extraintestinal stages of *Isospora felis* and *Isospora rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. *J. Protozool.*, v. 19, p. 89-92, 1972.

DUBEY, J.P.; MEHLHORN, H. Extraintestinal stages of *Isospora ohioensis* from dogs in mice. *J. Parasitol.*, v. 64, p. 689-695, 1978.

DUBEY, J.P.; MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cats feces. *J. Exp. Med.*, v. 132, p. 636-662, 1970.

DUBEY, J.P.; MURRELL, K.D.; FAYER, R. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs fed oocysts. *Am. J. Vet. Res.*, v. 45, p. 1941-1943, 1984.

DUBEY, J.P.; YEARY, R.A. Anticoccidial activity of 2-sulfamoyl-4,4-diaminodiphenylsulfone, sulfadiazine, pyrimethamine and clindamycin in cats infected with *Toxoplasma gondii*. *Can. Vet. J.*, v. 18, p. 51-57, 1977.

EUZEBY, J. Les coccidies parasites du chien et du chat: Incidences pathogéniques et épidémiologiques. *Rev. Med. Vet.*, v. 131, p. 43-61, 1980.

FAYER, R. Effects of refrigeration, cooking, and freezing on *Sarcocystis* in beef from retail food stores. *Proc. Helmintha Soc. Wash.*, v. 42, p. 138-140, 1975.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infection: The coccidia. *Vet. Parasitol.*, v. 6, p. 75-103, 1980.

FAYER, R.; FRENKEL, J.K. Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidia: *Besnoitia*, *Hammondia*, *Cystoisospora*, *Sarcocystis* and *Toxoplasma*. *J. Parasitol.*, v. 65, p.756-762, 1979.

FAYER, R.; REID, W.M. Control of Coccidiosis. In: *The Biology of the Coccidia* (Long, P.L. ed.) Univer. Park Press, Baltimore. 1982, p.453-487.

FAO. Statistical Database. *Food and Agriculture Organization*. Rome, Italy. 1998.

FREIRE, R.B. *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1926) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae): caracterização, infecção experimental e resposta imune em camundongos albinos. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 10p., 1993.

FREIRE, R.B.; LOPES, C.W.G. Infecção experimental em camundongos neonatos com esporozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Rev. Bras. Ci. Vet.*, v. 2, p. 33-34, 1995.

FREIRE, R.B.; LOPES, C.W.G. Distribuição de hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em camundongos albinos experimentalmente infectados. *Rev. Bras. Parasitol.*, v. 5, p.23-28, 1996.

FRENKEL, J.K. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isospororoid coccidia. *J. Parasitol.*, v. 63, p. 611-628, 1977.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P. Rodents as vectors for feline coccidia, *Isospora felis* and *Isospora rivolta*. *J. Infect. Dis.*, v. 125, p.69-72, 1972.

FISH, J.G. Jr.; MORGAN, D.W.; HORTON, C.R. Clinical experiences with sulfadimethoxine in animal practice. *Vet. Med.*, v. 60, p. 1201-1206, 1965.

GAMBLE, H.R.; BRADY, R.C. & DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in the New England states. *Vet. Parasitol.*, v. 82, p. 129-136, 1999.

GEORGI, J.R.; GEORGI, M.E. In: *Canine Clinical Parasitology*. (Lea & Febiger eds.) Philadelphia London, 1992, p. 75-100.

GERMANO, P.M.L. Zoonoses e saúde pública. *Higiene Alimentar*. v.1, p. 73-78, 1982.

GILL, H.S.; AJAIB, S.; VADEHRA, D.V.; SETHI, S.K. Shedding of unsporulated *Isospora* oocysts in faeces by dogs which were fed diaphragm muscles from water buffalo (*Bubalus bubalis*) naturally infected with *Sarcocystis*. *J. Parasitol.*, v. 61, p. 549-551, 1978.

GUIMARÃES, F.N.; LAGE, H.A. Prevalência do ciclo de *Isospora felis* Wenyon, 1923 e *Isospora rivolta* (Grassi, 1879) Wenyon, 1923 em gatos. *Mem. Inst. Osv. Cr.*, v. 71, p. 43-54, 1973.

GUTIERREZ, A.E.; SCHANTZ, P.M.; AGUILERA, J.; LOPEZ, A. Epidemiologic observations on porcine cysticercosis in rural community of Michoacan State, Mexico. *Vet. Parasitol.*, v. 41, p. 195-201, 1992.

HARLEMAN, J.H.; MEYER, R.C. Life cycle of *Isospora suis* in gnotobiotic and conventional piglets. *Vet. Parasitol.*, v. 17, p. 27-39, 1984.

HEINE, J. Die Tryptische Organverdaung als Methode zum Nachweis extraintestinales Stadieh bei *Cystoisospora* spp. Infektionen. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.* v. 94, p. 103-104, 1981.

HERZOG, J.D.; COSTA, P.S. DA; FREIRE, R.B.; SOUZA, A.L.G.; FLAUSINO, W. Infecção por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em cobaios. *Res. Exp., HI Sem. Bras. Parasitol. Vet. Londrina*, p. 12. 1993.

HILALI, M.; NASSAR, A.M.; EL-GHAYSH, A. Camel (*Camelus dromedaries*) and sheep (*Ovis aries*) meat as a source of dog infection with some coccidian parasites. *Vet. Parasitol.*, v. 43, p. 37-43, 1992.

HITCHCOCK, D.J. The life cycle of *Isospora felis* in the kitten. *J. Parasitol.*, v. 41, p. 383-393, 1955.

JACOBS, L.; REMINGTON, J.S.; MELTON, M.L. A survey of meat samples from swine, cattle, and sheep for the presence of encysted Toxoplasma. *J. Parasitol.*, v. 46, p. 23-28, 1960.

JARVINEN, J.A.C.; ZIMMERMAN, G.L.; SCHONS, D.J. & GUENTHER, C. Serum proteins of neonatal pigs orally inoculated with *Isospora suis* oocysts. *Am. J. Vet. Res.*, v. 49, p. 380-385, 1988.

KEAN, B.H.; KIMBALL, A.C.; CHRISTENSEN, W.N. An epidemic of acute toxoplasmosis. *J. Am. Med. Ass.*, v. 208, p. 1002-1004, 1969.

KIRKPATRICK, C.E.; DUBEY, J.P. Enteric coccidial infection. *Vet. Clin. North Amer.: Small Animal Pract.*, v.17, p. 1405-1421, 1987.

LEVINE, N.D. *Veterinary Protozoology*. Ames, Iowa State University press, 414p. 1985.

LEVINE, N.D.; IVENS, V. The coccidian parasites (protozoa, Apicomplexa) of artiodactyla. *Ill. Biol. Monogr.*, v.55, p. 3-20, 1986.

LICKFELD, K.G. Untersuchungen über das Kats encoccid *Isospora felis* Wenyon, 1923. *Archly. für Protistenkd.*, v. 103, p. 427-456, 1959.

LIMA, J.D.; MARTINS, N.E.; OLIVERA, A.R.S. & BOROTTI, L.P. Coccidiose em leitões lactentes de Minas gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 35: 33-40. 1983.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. Biology of mammalian *Isospora*. *Parasitol. Today.*, v. 10, p. 214-218, 1994.

LINDSAY,D.S.; BLAGBURN, B.L.; ERNEST, J.V.; CURRENT, W.L. Experimental coccidiosis (*Isospora suis*) in a litter of feral piglets. *J. Wildl. Dis.*, v. 21, p. 309-310, 1985.

LINDSAY,D.S.; DUBEY, J.P.; BLAGBURN, B.L. Biology of *Isospora* spp. from humans, nonhuman primates, and domestic animals., *Clin. Microbiol. Rev.* v. 10, p. 19-34, 1997.

LOSS, Z.G. *Biologia e patologia de Cystoisospora felis (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em felinos*. Mestrado em Patologia Clínica, UFRRJ, 56p., 1984.

LOSS, Z.G. *Cystoisosporose felina*. Doutorado em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 104p., 1991.

LOSS, Z.G.; LOPES, C.W.G. Efeito da infecção experimental por *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) no ganho de peso de camundongos. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, v. 15, p. 109-111, 1992a.

LOSS, Z.G.; LOPES, C.W.G. Alguns aspectos clínicos na infecção experimental por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em gatos. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, v. 15, p. 79-84, 1992b.

LUBROTH, J.S., DREESEN, D.W.; RIDENHOUR, R.A. The role of rodents and other wildlife in the epidemiology of swine toxoplasmosis. *Prev. Vet. Med.*, v. 1, p.169-178, 1983.

MARKUS, M.B. Studies on Isosporan coccidia of mammals including man. *PhD Thesis, Univ. London. In: Untersuchungen an extraintestinalen entwicklungstadien (Dormozoitien) von Cystoisospora rivolta der Katza in der Maus.* (BRÖSIGKE, S. ed., 1981). *Dissert. zur Erlan. Der tiermediz. Dok. Wurde der Tierarzt., Muchen*, 37p. 1975.

MARKUS, M.B. A term for extraintestinal stages of mammalian *Isospora* (Protozoa, Coccidia, eimeriidae). *S. Afr. J. Sci.*, v. 72, p. 220, 1976.

MARKUS, M.B. Terminology for invasive stages of protozoa of the subphylum Apicomplexa (Sporozoa) *S. Afr. J. Sci.*, v.74, p. 105-106, 1978.

MATSUI, T.; MORRI, T.; IIJIMA, T.; ITO, S.; TSUNODA, K. Effect of sulfamono methoxine against *Isospora rivolta* in cats. *Jpn. Vet. J.*, v. 4, p. 235-239, 1977.

MATUSCHKA, F.R.; HEYDORN, A. O. Die entwicklung von *Isospora suis* Biester and Murray 1934 (Sporozoa: Coccidia: Eimeriidae) im Schwein. *Zoolog. Beiträge*, v. 26, p. 405-476, 1980.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; TAUXE, R.V. Food-related illness and death in United States. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 5, p.840-842, 1999.

MEHLHORN, H.; MARKUS, M.B. Electron microscopy of stages of *Isospora felis* of the cat in the mesenteric lymph nodes of the mouse. *Z. Parasiterikci*, v.51, p. 15-24, 1976.

MENEZES, R. de C.A.A. de. *Epizooetiologia da Eimeria arloingi (Marotel, 1905) Marian, 1909 (Apicomplexa: Eimeriidae) na Microrregião Serrana Fluminense, Estado do Rio de Janeiro.* Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 57p., 1994.

MEYER, C.; JOACHIM, A.; DAUGSCHIES, A. Ocurrence of *Isospora suis* in a larger piglet production units and on specialized piglet rearing farms. *Vet. Parasitol.*, v. 82, p. 277-284, 1999.

MIRANDA, Z.B. *Sarcocystis* (Lankester, 1982) (Apicomplexa: Sarcocystidae) em suínos: morfologia, identificação das espécies e importância higiênico-sanitária em áreas da Região Nordeste do Brasil. Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 102p., 1999.

NEMESÉRI, L. Beitrag zur Atiologie der coccidiose der hunde I *Isospora canis* sp. n. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, v. 10, p. 95-99, 1959.

NICHOL, S.; BALL, S.J.; SNOW, K.R. Prevalence of intestinal parasites in domestic cats from the London area. *Vet. Rec.*, v. 109, p. 252, 1981.

OLIVEIRA, F.C.R. DE. Avaliação da infecção em camundongos albinos com oocistos esporulados de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) e sua transmissão ao cão doméstico. Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 172 p. 2001.

PERMIN, A.; YELIFARI, L.; BLOCH, P.; STEENHARD, N.; HANSEN, N.P.; NANSEN, P. Parasites in cross-bred pigs in the upper east region of Ghana. *Vet. Parasitol.*, v. 87, p. 63-71, 1999.

PINCKNEY, R.D.; LINDSAY, D.S.; TOIVIO-KINNUCAN, M.A.; BLAGBURN, B.L. Ultrastructure of *Isospora suis* during excystation and attempts to demonstrate extraintestinal stages in mice. *Vet. Rec.*, v. 47, p. 225-233, 1993.

ROBINSON, Y.; MORIN, M.; GIRARD, C.; HIGGINS, R. Experimental transmission of intestinal coccidiosis to piglets: clinical, parasitological and pathological findings. *Can. J. Comp. Med.*, v. 47, p. 401-407, 1983.

ROCHA, E.M. DA; LOPES, C.W.G. Comportamento da *Isospora canis*, *Isospora felis* e *Isospora rivolta* em infecções experimentais em cães e gatos. *Arq. Univ. Fed Rur. Rio de J.*, v. 1, p.65-70, 1971.

SANFORD, S.E.; JOSEPHSON, G.K.A. Porcine neonatal coccidiosis. *Can. Vet. J.*, v. 22, p. 282-285, 1981.

SCHANTZ, P.M.; McAULEY, J. Current status of food-borne parasitic zoonoses in united states. *Southeast Asia J. Trop. Med Public Health.*, v. 22 (suppl), p. 65-71. 1991.

SCHEFFIELD, H.G.; MELTON, M.L. *Toxoplasma gondii*: the oocyst, sporozoites and infection of culture cells. *Science.*, v. 167, p. 892-893, 1976.

SHAH, H.L. *Isospora* species of cat and attempted transmission of *I. felis*, Wenyon, 1923, from cat to the dog. *J. Protozool.*, v.17, p. 603-609, 1970.

SHAH, H.L. The life cycle of *Isospora felis* Wenyon, 1923, a coccidium of the cat. *J. Protozool.*, v.18, p. 3-17, 1971.

SLIFKO, T.R.; SMITH, H.V.; ROSE, J.B. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *Int. J. Parasitol.*, v. 30, p. 1379-1393, 2000.

SMITH, D.D. The Sarcocystidae: *Sarcocystis*, *Frenkelia*, *Toxoplasma*, *Hammondia*, and *Cystoisospora*. *J. Protozool.*, v. 28, p. 262-266, 1981.

SPEER, C.A. The coccidia. /n: In vitro Cultivation of Parasites (Jensen, J.B. ed.). *CRC Press Inc., Florida.*, 1983, p.1-64.

STUART, B.P.; GOSSER, H.S.; ALLEN, C.B.; BEDELL, D.M. Coccidiosis in swine: dose and age response to *Isospora suis*. *Can. J. Comp. Med.*, v. 46, p. 317-320, 1982.

SWELLENGREBEL, N.H. Zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von *Isopora bigemina* (Stiles). *Arch. Prostistenkd*, v. 32, p. 379-392, 1914.

TADROS, W.; LAARMAN, J.J. *Sarcocystis* and related coccidian parasites: a brief general review, together with a discussion on some biological aspects of their life cycles and a new proposal for the classification. *Acta. Leid.*, v. 44, p. 1-107, 1976.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, .R; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.*, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

THOMPSON, R.C.A. The future impact of societal and cultural factors on parasitic disease - some emerging issues. *Int. J. Parasitol.* v. 31, p. 949-959, 2001.

Von WASIELEWSKI, T. Studien and Mikrophotogramme zur kenntnis der pathogenen protozoen. I. unter. Ober der Bau, die Entw. *Und über die pathogene Bedeut. Der Coccidien*. 118p. 1904.

WARSSELMAN, R.H.; BAILAR, J.C.; BRYAN, F.; COLVIN, B.M.; EASTERDAY, B.; GRUMBLY, T.; HAFS, H.; HEIDELBAUGH, N.D.; KASIK, J.E.; OCKERMAN, H.W.; POTTER, M.; PULLEN, M.; WERNER, S.B. Meat and poultry inspection: the scientific basis of the nation's program. *Natl. Acad. Press, Was.*, D.C., 209p., 1985.

WEINMAN, D.; CHANDLER, A.H. Toxoplasmosis in swine and rodents: Reciprocal oral infection and potential human hazard. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 87, p. 211-216, 1954.

WEINMAN, D.; CHANDLER, A.H. Toxoplasmosis in man and swine – An investigation of the possible relationship. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 161, p. 229-232, 1956.

WENYON, C.M. Coccidiosis of cats and dogs and status of *Isospora* of man. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 17, p. 231-288, 1923.

WILKINSON, G.T. Coccidial infection in a cat colony. *Vet. Rec.*, v. 100, p. 156-157, 1977.

ZAYED, A.A.; EL-GHAYSH, A. Pig, donkey and buffalo meat as source of some coccidian parasites infecting dogs. *Vet. Parasitol.*, v. 78, p. 161-168, 1998.