

PLEOMORFISMO DE AMOSTRAS DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE
& MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)
ISOLADAS DE GALINHA NATURALMENTE INFECTADA E
MANTIDAS EM CAMUNDONGOS ALBINOS

SIMONI MACHADO DE MEDEIROS

1996

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

**PLEOMORFISMO DE AMOSTRAS DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE
& MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)
ISOLADAS DE GALINHA NATURALMENTE INFECTADA E
MANTIDAS EM CAMUNDONGOS ALBINOS**

SIMONI MACHADO DE MEDEIROS

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:
Dr. CARLOS WILSON GOMES LOPES

Tese submetida como requisito parcial para
a obtenção do grau de *Magister Scientiae*
em Medicina Veterinária - Parasitologia
Veterinária.

ITAGUAÍ, RIO DE JANEIRO
FEVEREIRO, 1996

TÍTULO DA TESE

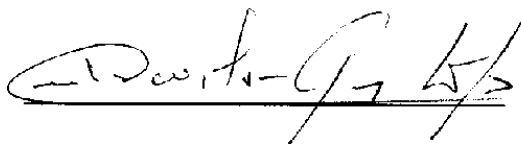
**PLEOMORFISMO DE AMOSTRAS DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE
& MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)
ISOLADAS DE GALINHA NATURALMENTE INFECTADA E
MANTIDAS EM CAMUNDONGOS ALBINOS**

AUTORA

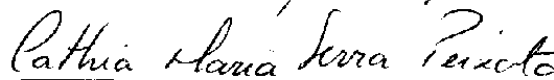
SIMONI MACHADO DE MEDEIROS

APROVADA EM: 27 / 02 / 1996

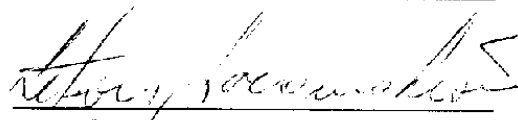
Dr. CARLOS WILSON GOMES LOPES



Dra. CATHIA MARIA SERRA PEIXOTO



Dr. ZELSON GIACOMO LOSS



Dr. CARLOS LUIZ MASSARD



Aos meus pais *Elza* e *Dorival*, pelo
apoio e incentivo.

Ao *Wellton*, pela compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente ao Professor CARLOS WILSON GOMES LOPES pela amizade e orientação.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em especial à VÂNIA RITA ELIAS PINHEIRO BITTENCOURT, RITA DE CÁSSIA ALVES ALCÂNTARA DE MENEZES e ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO.

Ao Departamento de Ultra-Estrutura Celular e ao Laboratório de Patologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz.

À LUCIA HELENA O'DWEYR, MARTA PEDROSA SOUTO MAIOR e LANASSA GUIMARÃES pela amizade e carinho a mim demonstrados.

Aos estagiários ALEXANDRE DIAS MUNHOZ e GEORGE REGO DE ALBUQUERQUE pela ajuda nos experimentos.

BIOGRAFIA

SIMONI MACHADO DE MEDEIROS, filha de Dorival Frazão de Medeiros e Elza Machado de Medeiros, natural do Estado do Rio de Janeiro, onde nasceu em 1 de abril de 1966.

Em 1988 ingressou na Faculdade de Humanidades Pedro II no Curso de Ciências Biológicas.

Estagiária à nível de Iniciação Científica e Aperfeiçoamento Profissional no Departamento de Protozoologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, no período de 1990 a 1994, sob orientação do Professor Wilson Jacinto Silva de Souza.

Ingressou em 1994 no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária da UFRRJ, a nível de Mestrado.

CONTEÚDO

	Págs.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Histórico	3
2.2. Classificação	5
2.3. Aspectos biológicos	6
2.3.1. Ciclo enteroepitelial	6
2.3.2. Ciclo extra-intestinal	8
2.4. Aspectos morfológicos	9
2.5. Patogenicidade do <i>Toxoplasma gondii</i>	11
2.6. Toxoplasmose em aves	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. Obtenção dos animais	15

3.1.1. Origem das aves	15
3.1.2. Origem dos camundongos	15
3.2. Necropsia das aves - coleta e processamento de órgãos para o isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i>	16
3.3. Inoculação em camundongos	16
3.3.1. Pesquisa do <i>Toxoplasma gondii</i> nos camundongos inoculados subcutaneamente com fragmentos de cérebro e coração das galinhas	17
3.4. Mensuração	18
3.5. Pesquisa do <i>Toxoplasma gondii</i> nos camundongos inoculados intraperitonealmente com fragmentos de cérebro e coração de galinha	18
3.5.1. Obtenção de antígenos do <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de galinha	19
3.5.2. Obtenção de antígeno do <i>Toxoplasma gondii</i> da cepa "C"	19
3.6. Teste de imunofluorescência indireta	20
3.7. Preparação das amostras de <i>Toxoplasma gondii</i> isoladas de cérebro e coração de galinha e da cepa "C" para microscopia eletrônica	20

	Págs.
3.8. Manutenção do <i>Toxoplasma gondii</i>	21
3.9. Fotomicrografia	21
3.10. Análise estatística	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Isolamento de <i>Toxoplasma gondii</i>	22
4.2. Caracterização das formas de <i>Toxoplasma gondii</i>	25
4.2.1. Formas extra-intestinais	25
4.2.2. Morfométrica	28
4.2.3. Sorológica	35
4.2.4. Microscopia eletrônica	37
4.3. Distribuição dos zoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> em órgãos de camun- dongos	37
4.4. Distribuição de macrófagos com zoítas de <i>Toxoplasma gondii</i>	46
5. CONCLUSÕES	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
7. APÊNDICES	69

ÍNDICE DAS FIGURAS

Págs.

FIGURA 1. Cérebro de camundongo infectado com taquizoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> . (↔) Reação a presença de antígeno de <i>T. gondii</i> . Avidina-Biotina (— = 10 µm)	24
FIGURA 2. Taquizoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> : A. formas finas (▶) e em divisão (↔); B. largas (▶) e extralarga (↔); C. largas em rosetas; D. extralargas no citoplasma de macrófago e E. extralargas num processo de invasão (↔) e proliferação (▶). Giemsa (— = 10 µm)	27

FIGURA 3. Microscopia eletrônica de taquizoítas de <i>Toxoplasma</i> em macrófagos peritoneais de camundongos albinos: A. amostra procedente de cérebro (— = 32.900X), conóide (c), roptrias (r) e núcleo (n); B. amostra procedente de coração (— = 7.300X), conóide (c), vácuolo parasitóforo (v); C. cepa C (— = 7.300X), conóide (c) e roptrias (r)	38
FIGURA 4. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de <i>Toxoplasma gondii</i> isolada de cérebro de galinha naturalmente infectada	39
FIGURA 5. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de <i>Toxoplasma gondii</i> isolada de coração de galinha naturalmente infectada	40

FIGURA 6. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de <i>Toxoplasma gondii</i> da 5ª passagem de cérebro de galinha naturalmente infectada	42
FIGURA 7. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de <i>Toxoplasma gondii</i> da 5ª passagem de coração de galinha naturalmente infectada	43
FIGURA 8. Distribuição de zoítas finos de <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente	44

FIGURA 9. Distribuição de zoítas finos de <i>Toxoplasma gondii</i> da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.....	45
FIGURA 10. Distribuição de zoítas largos de <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimental- mente.....	47
FIGURA 11. Distribuição de zoítas largos de <i>Toxoplasma gondii</i> da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.....	48

FIGURA 12. Distribuição de zoítas extra-largos de <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.....	49
--	----

FIGURA 13. Distribuição de zoítas extra-largos de <i>Toxoplasma gondii</i> da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente	50
---	----

FIGURA 14. Distribuição de macrófagos com zoítas de uma amostra de <i>Toxoplasma gondii</i> isolada de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente	51
---	----

FIGURA 15. Distribuição de macrófagos com zoítas de uma amostra de <i>Toxoplasma gondii</i> da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente	52
--	----

ÍNDICE DAS TABELAS

Págs.

TABELA 1. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do <i>Toxoplasma gondii</i> inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do cérebro de galinha naturalmente infectada	29
TABELA 2. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do <i>Toxoplasma gondii</i> inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do cérebro de galinha naturalmente infectada	30

TABELA 3. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do <i>Toxoplasma gondii</i> inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do cérebro de galinha naturalmente infectada	31
TABELA 4. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do <i>Toxoplasma gondii</i> inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do coração de galinha naturalmente infectada	32
TABELA 5. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do <i>Toxoplasma gondii</i> inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do coração de galinha naturalmente infectada	33

TABELA 6. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do <i>Toxoplasma gondii</i> inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do coração de galinha naturalmente infectada	34
TABELA 7. Aspectos sorológicos ao TIFI de uma amostra isolada de uma galinha naturalmente infectada frente a cepa “C” de <i>Toxoplasma gondii</i> mantida em camundongos albinos	36

ÍNDICE DOS APÊNDICES

	Págs.
APÊNDICE 1. Avaliação da sobrevivência de camundongos singênicos, inoculados com taquizoítas do <i>Toxoplasma gondii</i> Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae)	70
APÊNDICE 2. Distribuição do <i>Toxoplasma gondii</i> Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em órgãos de camundongos albinos inoculados com uma amostra acistogênica: dados preliminares	78
APÊNDICE 3. Pleomorfismo de uma amostra acistogênica de <i>Toxoplasma gondii</i> Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolada de uma galinha naturalmente infectada .	83

RESUMO

Onze galinhas foram obtidas no Município de Seropédica, localizado no Estado do Rio de Janeiro. Amostras de cérebro e coração dessas aves foram inoculadas intraperitonealmente e subcutaneamente em camundongos albinos. *Toxoplasma gondii* foi isolado de uma das galinhas. A morte dos camundongos ocorreu entre o 6º e o 8º dia após inoculação (DAI) intraperitoneal e 12º e 15º DAI subcutânea. À necropsia, os órgãos afetados dos camundongos inoculados subcutaneamente foram os pulmões, baço, rins, fígado e coração com presença de taquizoítas. Não foram observados cistos no cérebro e nos órgãos desses animais, seja na amostra proveniente do cérebro ou coração das galinhas. Os taquizoítas, independentes da origem das amostras, foram caracterizados como pleomórficos com três formas: finos, largos e extralargos. Nos pulmões desses animais não encontrou-se zoítas extralargos. A variação nas medidas dos diâmetros maior e menor das três formas foram significativas ao se comparar os zoítas obtidos no isolamento com aqueles da 5ª passagem.

SUMMARY

Eleven chickens were obtained at the municipality of Seropédica in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Brain and heart samples from these animals were inoculated intraperitoneally (IP) and subcutaneously (SC) in albino mice. *Toxoplasma gondii* was isolated from one of these chickens. After inoculation, albino mice died from 6° to 8° days after infection (DAI) by IP and from 12° to 15° DAI by SC inoculation. At necropsy, the more affected organs of the subcutaneously inoculated mice were lungs, spleen, kidneys, liver and heart respectively where tachyzoites were present. In both isolates were not found cysts in brain or in tissues smears of any organs of mice independently of the inoculation route. Tachyzoites found in affected organs were considered as pleomorphic with three forms well defined: thin, large and extra-large. In the lungs of the inoculated animals were not found any extra-large forms. A significant variation was observed when tachyzoites from isolation and 5th passage were compared.

1. INTRODUÇÃO

Comumente se notam modificações morfológicas nas estruturas de protozoários, sendo reconhecidas como parte de estágios evolutivos em seus ciclos biológicos, caracterizando, assim, uma estreita relação com seus hospedeiros, sejam eles considerados definitivos ou intermediários.

Na relação parasita e hospedeiro observou-se que têm havido modificações em suas características biológicas, podendo estas serem alteradas, se for considerada a capacidade de parasitar um ou mais hospedeiros, e nestes, localizações previamente determinadas. Tais alterações têm sido acompanhadas com modificações fisiológicas existentes entre protozoários e as células dos órgãos dos hospedeiros, acarretando, dessa forma, um intenso pleomorfismo, o que geralmente é observado na maioria dos coccídios.

Aos estágios multiplicativos têm sido relacionadas a maioria destas observações, muitas vezes utilizadas na caracterização de família, gêneros, espécies e

mesmo dentro de uma única espécie. Esta última é associada a capacidade de alguns coccídios acometer um maior número de hospedeiros. Um exemplo bem evidente ocorre quando se estuda a interação entre *Toxoplasma gondii* e seus diversos hospedeiros.

Este trabalho teve como objetivo isolar e caracterizar o *T. gondii*, obtido de galinha infectada naturalmente e mantidos por via subcutânea em camundongos albinos, quanto ao seu pleomorfismo e à sua relação com os órgãos parasitados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico

Toxoplasma gondii foi observado pela primeira vez em 16 de julho de 1908 por SPLENDORE em São Paulo, Brasil. Este autor encontrou o parasita em coelhos que morreram em seu laboratório, confundindo-o com parasitos do gênero *Leishmania* Ross, 1903.

No mesmo ano, em 26 de outubro, NICOLLE & MANCEAUX descreveram um parasito idêntico, encontrados em roedores africanos da espécie *Ctenodactylus gondi* Pallas, 1778 na região Matmata, Tunísia. Os mesmos autores, tal como SPLENDORE, a princípio, confundiram o parasita com *Leishmania*, sendo proposto na época o nome de *L. gondii*. Entretanto, em fevereiro de 1909, NICOLLE & MANCEAUX, ao estudar em outros “gondis” capturados na mesma área, verificaram que haviam encontrado um novo protozoário, tendo em vista a ausência de cinetoplasto, organela presente nos tripanosomatídeos. Ainda no referido trabalho,

o novo parasita também foi diferenciado do gênero *Haemogregarina* pela distinção de multiplicação e inoculação em animais.

Pelo aspecto em arco (do grego = *toxon*) que o parasita assume, fora e dentro de células, e por ter sido demonstrado nos *C. gondi*, NICOLLE & MANCEAUX propuseram em 1909, o nome de *Toxoplasma gondii*.

A seguir, SPLENDORE (1909) e CARINI (1909), baseando-se em formas esquizogônicas, encontradas no baço e fígado de coelho, diferenciaram o parasita do coelho, encontrado no *gondi*, pelo fato de ele só apresentar divisões binárias. Sendo assim, denominaram esse parasita como *T. cuniculi*. No mesmo ano, PROWAZEK chamou de *T. talpae* aos parasitas encontrados nas impressões de fígado de toupeira no Japão.

MELLO (1910) descreveu como *T. canis* o parasita encontrado na necropsia de um cão em Turim, Itália. CARINI (1911), ao examinar pombos naturalmente infectados, encontrou formas do *Toxoplasma* que, mais tarde, MIGLIANO (1913) denominou de *T. columbae*. Da mesma maneira, SANGIORGI (1913) observou o parasita em camundongos em Turin, Itália, denominando-o de *T. musculi*. O mesmo fez CASTELLANI (1914), que examinando um caso humano denominou o parasita como *T. pyrogenes*.

Desde então, muitos isolamentos de *Toxoplasma* foram conseguidos de vários animais examinados, passando a receber denominações específicas, de acordo com o hospedeiro parasitado.

Finalmente, SABIN (1939) concluiu que todas as espécies até então encontradas não eram hospedeiro-específicas, nem imunologicamente diferentes e que deveriam pertencer a uma só espécie. Levando-se em consideração a lei da prioridade, deveriam ser chamadas de *Toxoplasma gondii* NICOLLE & MANCEUAX, 1909.

2.2. Classificação

Até o presente momento, o Comitê da Sociedade de Protozoologistas em relação à Sistemática e Evolução (LEVINE *et alli*, 1980) tem citado o gênero *Toxoplasma* como pertencente ao filo Apicomplexa Levine, 1970; classe Sporozoa Leuckart, 1879; subclasse Coccidia Leuckart, 1879; ordem Eucoccidia Léger & Dubosc, 1910; subordem Eimeriina Léger, 1911.

LEVINE (1973a) colocou o gênero *Toxoplasma* em uma família isolada Toxoplasmatidae Biocca, 1956, e, posteriormente, (LEVINE, 1973b) na família Sarcocystidae Poche, 1913. FRENKEL (1974) situou-o novamente na família Toxoplasmatidae. No entanto, FRENKEL (1977) reconsiderou, reconhecendo-o como pertencente à subfamília Toxoplasmatinae Biocca, 1965 na família Sarcocystidae.

LEVINE (1977), após revisão das principais características do *Toxoplasma*, descreveu-o como um gênero da família Eimeriidae Minchin, 1903,

propondo também a inclusão de 7 espécies de *Toxoplasma*, sendo *T. gondii* e *T. hammondii* (syn. *Hammondia hammondi*, FRENKEL & DUBEY, 1975). Únicas espécies cujos ciclos de vida foram estudados até então. As outras cinco espécies propostas (*T. alencari*, *T. brumpti*, *T. colubri*, *T. ranæ* e *T. serpai*) encontradas em répteis e anfíbios, foram consideradas por DUBEY (1977) como de posição taxonômica incerta, devido ao desconhecimento de suas estruturas celulares e ciclos biológicos.

2.3. Aspectos biológicos

O ciclo do *T. gondii* apresenta duas fases: enteroepitelial e extra-intestinal. A fase entérica encontra-se somente nas espécies de felídeos, hospedeiros definitivos. A fase somática foi denominada de extra-intestinal nos hospedeiros intermediários e definitivos FRENKEL (1974).

2.3.1. Ciclo enteroepitelial

Realizado nas células epiteliais da mucosa do intestino delgado de felídeos, especialmente no gato doméstico. Esses animais infectam-se, geralmente, com participação de hospedeiros intermediários, contendo taquizoítas ou bradizoítas

(WALLACE, 1973a,b). Anteriormente, DUBEY & FRENKEL (1972) realizaram estudo sobre o ciclo do *T. gondii* em gatos, após a inoculação oral de cistos. Embora o ciclo assexuado no epitélio intestinal do gato possa ser iniciado através de taquizoítas e esporozoítas, somente o ciclo induzido com bradizoítas tem sido melhor estudado. Esses autores associaram ao ciclo “enteroepitelial” cinco novas fases de multiplicação, denominadas como “tipos” A,B,C,D e E. O conceito de um “tipo” baseia-se na sua estrutura, no seu modo de divisão. A gametogonia, com conseqüente formação de oocistos, foi também estudada. A origem dos gametócitos não foi determinada provavelmente os merozoítas, provenientes dos merontes “tipos” D e E, possam ser responsáveis por ela. Os oocistos são eliminados nas fezes de felídeos (FRENKEL *et alii*, 1970; DUBEY *et alii*, 1970a,b) ainda imaturos não infectantes. A esporulação ocorre dentro de um período de 1 a 4 dias, sendo entretanto dependente da temperatura e condições aeróbicas. Dentro de cada oocisto infectante formam-se 2 esporocistos, cada qual contendo 4 esporozoítas (DUBEY *et alii*, 1970c).

Os períodos pré-patentes variam dependendo da forma infectante ingerida pelo hospedeiro definitivo. Sendo assim, o período pré-patente após a ingestão de cistos contendo bradizoítas é de 4 a 5 dias; após a ingestão de taquizoítas é de 5 a 19 dias e após a ingestão de oocistos esporulados, de 21 a 49 dias (WALLACE,1973a).

2.3.2. Ciclo extra-intestinal

No ciclo dos hospedeiros não felídeos desenvolvem-se, inicialmente, taquizoítas, que possuem a capacidade de parasitar vários tipos celulares como fibroblastos, células reticulares, hepatócitos, pneumócitos, neurônios e células do músculo cardíaco, sendo essas formas observadas durante a infecção aguda (FRENKEL, 1973). Além disso, MANWELL (1941) demonstrou o *T. gondii* em eritrócito de aves. Já os cistos são observados na infecção crônica, comumente no cérebro, coração e músculo esquelético, podendo, no entanto, ser encontrado em qualquer órgão (FRENKEL, 1973).

A parede dos cistos isola os bradizoítas dos tecidos do hospedeiro, impedindo a reação inflamatória (FRENKEL, 1956). Dessa maneira, os cistos intactos provavelmente não causam prejuízo ao hospedeiro, podendo persistir por toda a vida (DUBEY, 1977).

O ciclo extra-intestinal também ocorre no gato, simultaneamente ao ciclo que se passa no intestino. Assim, os tecidos extra-intestinais do gato podem ser parasitados por taquizoítas e, mais tarde, conter cistos (DUBEY & FRENKEL, 1972).

2.4. Aspectos morfológicos

Os taquizoítas do *T. gondii* apresentam forma em arco ou meia lua que, por vezes se torna arredondada. Mede 4 a 7 μm de comprimento e 2 a 4 μm de largura, sendo sua extremidade anterior mais afilada que a posterior. O núcleo, na maioria das vezes, é semi-central, localizado na metade posterior do taquizoítas (FRENKEL, 1973).

Estudos em microscopia eletrônica revelaram inúmeras organelas. Uma membrana dupla envolve o protozoário. Na extremidade anterior, mais afilada, há um anel polar que envolve o conóide, o qual corresponde a uma organela em forma de cone truncado formado por microtúbulos. Do conóide estendem-se posteriormente 4 a 8 organelas pares, ligeiramente claviformes, afiladas, cujo diâmetro vai aos poucos aumentando até atingir as proximidades do núcleo. Tais estruturas são chamadas de roptrias. Ribossomas, mitocôndrias com numerosas cristas e vacúolos de glicogênio têm sido também identificados no citoplasma (SOUZA, 1974).

“Pseudocistos”, grupos, clones ou colônias terminais são denominações dadas à célula hospedeira, contendo numerosos taquizoítas (DUBEY, 1977). Porém, FRENKEL (1971), considerou o termo “pseudocisto” confuso e controvertido, por ser usado tanto para formas císticas como não císticas. Esse mesmo autor propôs em

1974, o termo “grupo tecidual” em substituição aos anteriores, dando a noção de conjunto de parasitas.

Os bradizoítas envoltos por uma membrana argirofílica formam cistos de tamanho variável; os jovens podem medir 5 μm , possuindo 4 bradizoítas; os cistos mais velhos podem ter até 100 μm e conter centenas de bradizoítas em seu interior (BEVERLEY, 1976). DUBEY & FRENKEL (1976) observaram que, durante a divisão, tanto taquizoítas como bradizoítas tiveram o núcleo localizado centralmente. Os bradizoítas contêm vários grânulos de glicogênio, os quais são raros ou ausentes nos taquizoítas (DUBEY, 1977). Os bradizoítas são morfologicamente semelhantes aos taquizoítas. À microscopia eletrônica também são evidenciadas semelhanças entre as duas formas. Diferenças antigênicas entre bradizoítas e taquizoítas têm sido detectadas através de anticorpos fluorescentes (LUNDE & JACOBS, 1983). Anti-soros contra os bradizoítas reagem especificamente e somente contra eles mesmo, ao passo que os anti-soros anti-taquizoítas reagem contra as duas formas evolutivas (taquizoítas em bradizoítas). Por outro lado, a adsorção desses últimos anti-soros com os taquizoítas, removem as reações positivas contra eles próprios, sugerindo que existem nítidas diferenças antigênicas entre bradizoítas e taquizoítas do *Toxoplasma in vitro*. Existem ainda similaridades antigênicas entre *T. gondii* e outros coccídios, tais como *H. hammondi* Frenkel & Dubey, 1974 (ARAUJO *et alii*, 1984).

Os oocistos não esporulados são subesféricos a esféricos e medem cerca de 10x 12 μm , e quando esporulados são subesféricos a elipsoidais medindo cerca de 11 x 12,5 μm (DUBEY *et alii*, 1970a; DUBEY & FRENKEL, 1976). Os esporocistos são elipsoidais, medindo cerca de 6 x 8,5 μm e os esporozoítas são alongados, medindo cerca de 2 x 8 μm quando livres (DUBEY *et alii*, 1970a).

2.5. Patogenicidade do *Toxoplasma gondii*

BEVERLEY (1976) relatou que a maioria das cepas do *T. gondii* que ocorre na natureza é de baixa virulência, pois se encista e freqüentemente não mata o animal.

Estudos sobre a patogenicidade de cepas de *Toxoplasma* têm sido realizados em camundongos (DUBEY & FRENKEL, 1973; DUBEY, 1980). Algumas cepas são fatais, mesmo em baixas doses, para camundongos, enquanto outras não causam doença aparente (BEVERLEY, 1976). Utilizando-se cepas virulentas facilmente obtêm-se traquizoítas em camundongos, o que não ocorre com cepas avirulentas, as quais crescem lentamente, formando usualmente cistos cerebrais (DUBEY, 1977).

Em animais inoculados experimentalmente (STRANNEGARD, 1967; TOS-LUTY, 1980a,b; UGA *et alii*, 1980) ou mesmo a infecção natural em primatas não humanos (ARAUJO *et alii*, 1973; NERY - GUIMARÃES & FRANKEL,

1971a,b) demonstram a difusão do parasitismo nesses animais, quando infectados com *T. gondii*.

Além da infecção adquirida do *T. gondii* por animais (FRENKEL, 1986; McCOLM *et alii*, 1981) domésticos e silvestres, existe a possibilidade de transmissão congênita com passagem de taquizoítas pela placenta e infecção do concepto (BEVERLEY, 1976). Com isso pode ocorrer abortos precoces (DUBEY *et alii*, 1980; DUBEY, 1981a,c)

A toxoplasmose tem assumido importância para indivíduos que necessitem de transplante de órgãos ou de medula óssea, quando submetidos a imunossupressão com medicamentos; ou que tenham imunodeficiência adquirida como por exemplo AIDS (Síndrome de imunodeficiência adquirida). Existindo ainda a possibilidade de recrudescência de uma infecção latente, com ruptura de cistos; se a nível cerebral (FRENKEL & ESCAJADILLO, 1987; FRENKEL, 1988), poderá determinar um quadro de encefalite toxoplásmica, podendo ser fatal (AMBROISE-THOMAS & PELLOUX, 1993).

2.6. Toxoplasmose em aves

A primeira descrição de toxoplasmose clínica em aves, no Brasil, foi feita por NOBREGA *et alii* (1955), que relataram uma epizootia num lote de 600

frangos, com dois a três meses de idade, cujo índice de mortalidade atingiu 50%. O quadro clínico observado foi considerado semelhante ao observado para “coccidiose”. O fígado e o baço apresentavam-se com volumes aumentado e focos necróticos quando avaliados macroscopicamente. O coração estava pálido, com nódulos branco-amarelados e o pulmão, com áreas congestionadas. A presença do parasito foi constatada no pulmão, fígado e baço ao exame histológico. *T. gondii* foi isolado dos órgãos citados anteriormente e também do cérebro. A cepa isolada de 76,6% dos animais, doentes e clinicamente saudáveis não foi capaz de provocar sintomatologia em aves infectadas experimentalmente com taquizoítas por via oral. PEIXOTO (1990) isolou o *T. gondii* em 30% de galinhas de fundo de quintal examinadas no Distrito de Seropédica em Itaguaí, Rio de Janeiro.

A importância epidemiológica das aves que vivem próximo as habitações humanas têm sido motivo de avaliação por ter hábitos de se alimentarem de grãos e insetos espalhados nos quintais; onde, muitas vezes gatos enterram suas fezes positivas para oocistos de *T. gondii*. Sendo assim, aves de fundo de quintal podem ser apontadas como fonte de infecção do *T. gondii*, apesar de se manterem clinicamente saudáveis (FOSTER *et alii*, 1969; PEIXOTO & LOPES, 1995).

Desta maneira, foram observadas infecção do parasita em aves silvestres como pombos (JACOBS *et alii*, 1952), corujas (KIRKPATRICK *et alii*, 1990; DUBEY *et alii*, 1992), picitacídeos (HOWERTH *et alii*, 1991), pinguim

(MASON *et alii*, 1991), codornas (DUBEY *et alii*, 1993), echidnias (DUBEY & HARTLEY, 1993), perus (LINDSAY *et alii*, 1994) e perdizes silvestres (DUBEY *et alii*, 1995), e em aves ornamentais (VICKERS *et alii*, 1992).

A partir do momento que se tem conhecimento da importância do processo de disseminação deste parasito, poucos estudos têm sido observados sobre a presença de *T. gondii* em aves no Brasil, que são utilizadas na alimentação de animais e do homem. Além dos trabalhos feitos no exterior em galinhas (DUBEY *et alii*, 1993), perus (DUBEY *et alii*, 1993) e faixões (DUBEY *et alii*, 1994).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção dos animais

3.1.1. Origem das aves

Onze galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas em condições naturais foram obtidas no Município de Seropédica, localizado na Microrregião Fluminense do Grande Rio (FIBGE, 1985). As aves foram adquiridas aleatoriamente e de diversos proprietários.

3.1.2. Origem dos camundongos

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) albinos fêmeas jovens pesando 20 ± 2 g. Esses animais eram de procedência do Biotério Central do Instituto

Oswaldo Cruz da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, RJ). Os trabalhos de isolamento e caracterização morfológica do *T. gondii* em camundongos foram realizados no Setor de Imunologia do Projeto Sanidade Animal (EMBRAPA/UFRRJ), Km 7 da BR-465, Seropédica, Rio de Janeiro. Os animais foram acondicionados em caixas plásticas com água e ração¹ *ad libitum*.

3.2. Necropsia das aves - coleta e processamento de órgãos para o isolamento do *Toxoplasma gondii*

Após a necropsia das aves, foram coletados fragmentos de cérebro e coração. Posteriormente, cada fragmento de órgão foi isoladamente triturado em gral e pistilo estéreis, homogeneizados em 10 ml de solução salina a 0,9%² e filtrados através de gaze estéril de 4 camadas. A esse material foram adicionadas 100UI de penicilina G potássica e 100 µg de estreptomicina.

3.3. Inoculação em camundongos

A suspensão de fragmentos de órgãos foi inoculada subcutânea e intraperitonealmente em camundongos. Para cada suspensão de órgãos, foram

¹ Labina-Purina, São Paulo.

² Solução de Cloreto de Sódio a 0,9 %, Darrow Laboratórios.

utilizados cinco camundongos por cada via de inoculação acima citadas, sendo que cada animal recebeu 1 ml por inóculo. De cada grupo de vinte camundongos inoculados, correspondente a uma galinha, cinco outros foram separados para controle.

3.3.1. Pesquisa do *Toxoplasma gondii* nos camundongos inoculados subcutaneamente com fragmentos de cérebro e coração das galinhas

Cada animal foi observado diariamente após inoculação (DAI), anotando-se as alterações eventualmente observadas durante o período de infecção. Neste período alguns animais morreram e aqueles que apresentaram sinais de infecção foram anestesiados e sacrificados em câmara saturada em éter. O sangue destes animais foi coletado por punção cardíaca para Teste de Imunofluorescência Indireta (TIFI). Foram realizadas necropsias para pesquisa do protozoário. Para pesquisa de cistos de *T. gondii* foram feitos exames a fresco de fragmentos de cérebro comprimidos entre lâmina e lamínula e esfregaços. Para observações de taquizoítas foram feitas impressões de fígado, baço, pulmões, rins e coração, as quais foram secas ao ar, fixadas em metanol por 3 minutos e coradas pelo Giemsa na proporção de 1:3 por 30 minutos. Foram coletados fragmentos de cérebro dos animais, fixados em

formalina a 10%, incluídos em parafina, cortados em micrótomo³ e corados pela Avidina - Biotina para observação de antígenos do parasita.

3.4. Mensuração

As mensurações de taquizoítas nas impressões de fígado, baço, pulmões, rins e coração foram feitas com auxílio de microscópio óptico Dialux- Leitz 20 EB⁴ com ocular micrométrica K-15x PZO⁵.

3.5. Pesquisa do *Toxoplasma gondii* nos camundongos inoculados intraperitonealmente com fragmentos de cérebro e coração de galinha

Cada animal foi observado diariamente após inoculação (DAI). Os que apresentaram sinais de infecção aparente foram sacrificados, como descrito no item 3.3.1., para retirada do exsudato peritoneal.

³ Leitz Wetzlar, República Federal da Alemanha.

⁴ Leitz Wetzlar, República Federal da Alemanha.

⁵ República da Polônia.

3.5.1. Obtenção de antígenos do *Toxoplasma gondii* isolados de galinha

Os antígenos foram obtidos do exsudato peritoneal de camundongos inoculados com amostras de cérebro e coração. Ao exsudato peritoneal foi adicionado um volume duas vezes maior de formol a 2%. O material foi centrifugado a 500 rpm durante 10 minutos, a fim de que as células do hospedeiro, caso existissem, fossem separadas do sobrenadante contendo parasitas. O sobrenadante foi centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos e o sedimento resuspenso em solução de cloreto de sódio a 0,85% e centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Após a última centrifugação, o sedimento foi resuspenso em pequena quantidade de solução de cloreto de sódio a 0,85%, de forma a originar uma suspensão com 7×10^6 taquizoítas/ml. O antígeno foi, então, colocado em lâminas⁶ reticuladas especiais para microscopia de fluorescência. As lâminas foram secas à temperatura ambiente (SOUZA, 1986).

3.5.2. Obtenção de antígeno do *Toxoplasma gondii* da cepa “C”

O antígeno usado da cepa “C” foi de uma amostra de *T. gondii* isolada de um caso congênito humano (cepa gentilmente cedida pelo Dr. Wilson Jacinto Silva de Souza do Departamento de Protozoologia - FIOCRUZ).

⁶ Lâmina Perfecta-Extrafina, São Paulo.

3.6. Teste de imunofluorescência indireta

Utilizou-se o Teste de Imunofluorescência Indireta (TIFI), a fim de se detectar anticorpos das classes de imunoglobulinas M (IgM) e G (IgG) para toxoplasmose em camundongos.

O soro, obtido após centrifugação do sangue, foi diluído em solução tampão fosfato (PBS) de Ph 7.2, a partir de 1:16 com diluições sucessivas na razão 4, até se obter a negatividade dos soros que se apresentassem positivos.

Os conjugados fluorescentes anti-IgM e anti-IgG de camundongos⁷, produzidos em caprinos e ligados ao isotiocianato de fluoresceína, foram diluídos em PBS-Azul de Evans, no momento do uso.

As TIFI IgM e IgG foram observadas ao microscópio óptico (modelo Axiphot)⁸, adaptado com luz ultravioleta (Lâmpada HBO-50W)⁹.

3.7. Preparação das amostras de *Toxoplasma gondii* isoladas de cérebro e coração de galinha e da cepa "C" para microscopia eletrônica

As amostras foram fixadas em formaldeído-glutaraldeído, contendo CaCl_2 (KARNOSVSKY, 1965).

⁷ Biolab, São Paulo.

⁸ Carl Zeiss, República Federal da Alemanha.

⁹ Osram, República Federal da Alemanha.

3.8. Manutenção do *Toxoplasma gondii*

No sentido de manter as amostras do *T. gondii* isoladas do cérebro e do coração, foi feito homogeneizado do cérebro dos camundongos separadamente e inoculado por via subcutânea em cinco camundongos e, dessa maneira, sucessivamente em lotes de camundongos.

3.9. Fotomicrografia

As estruturas identificadas como taquizoítas do *T. gondii* foram fotografadas com o auxílio de microscópio triocular Jenapol¹⁰ e equipamento fotográfico modelo mf-AKS 24 x 36 /automatic-2¹⁰ com filme Kodak 135 mm, 100 ISO.

3.10. Análise estatística

Para análise estatística dos resultados utilizou-se o programa Minitab (SCHAEFER & ANDERSON, 1989).

¹⁰ Carl Zeiss-Jena, República Federal da Alemanha.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Isolamento de *Toxoplasma gondii*

Foi possível isolar o *T. gondii* de uma das galinhas em um total de 11 examinadas. Todos os camundongos inoculados com fragmentos de cérebro e coração dessa ave foram positivos. O encontro do *T. gondii*, principalmente no cérebro e coração de galinhas foi descrito anteriormente por PEIXOTO (1990).

Toxoplasma gondii isolado da galinha foi fatal para camundongos. A morte natural dos camundongos ocorreu entre o 12º e o 15º dia após inoculação (DAI) subcutânea. DUBEY (1980) considerou que, em infecções experimentais, as cepas patogênicas matam o camundongo dentro de 15 dias, enquanto que cepas pouco patogênicas podem determinar a morte dentro de 1 a 2 meses. Geralmente, o tempo de morte é menor nas inoculações intraperitoneais que nas subcutâneas FRENKEL (1973).

As alterações observadas nos camundongos até o 12º DAI foram caracterizados por perda de peso, inapetência, pêlos eriçados, dificuldades respiratória e tique nervoso. Da mesma maneira PEIXOTO (1990) observou as mesmas alterações quando trabalhou com uma amostra que formava cistos em camundongos, isolada de galinhas na mesma região; porém, não observou a presença de tique nervoso. Da mesma forma, sinais clínicos semelhantes a estes são descritos em camundongos infectados com *Neospora caninum* (LINDSAY & DUBEY, 1989).

Os pulmões dos animais inoculados por via subcutânea eram de aspecto pálido e, ao corte do parênquima, observou-se a saída de uma grande quantidade de muco pelas narinas. O fígado, baço e rins tinham manchas brancas de bordos circunscritos por todo o parênquima. De maneira geral, o fígado e o baço estavam aumentados. FRENKEL (1973) descreveu quadro semelhante, verificando que, após inoculação subcutânea do *T. gondii*, o parasito se dissemina, atingindo os pulmões, resultando em pneumonia significativa e finalmente acometendo praticamente todos os órgãos, podendo ser fatal.

Com relação aos cistos do *T. gondii*, não foram observados no cérebro desses animais, quando examinados a fresco, bem como nos esfregaços corados pelo Giemsa. Ao corte e coloração pela Avidina-Biotina (Figura 1) foram verificados antígenos do parasito no cérebro desses animais. PEIXOTO (1990) verificou cistos no cérebro da maioria dos camundongos a partir do 13º DAI.

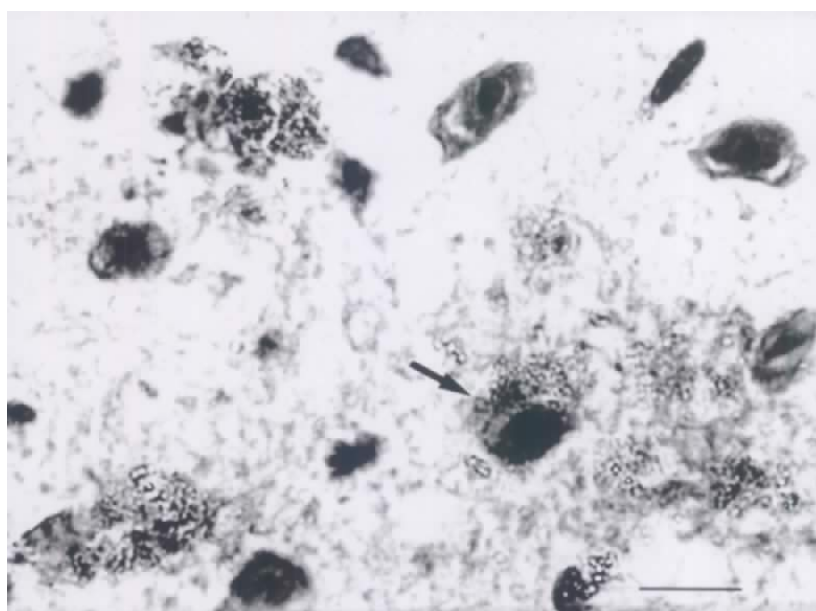


FIGURA 1. Cérebro de camundongo infectado com taquizoítas de *Toxoplasma gondii*. (➡) Reação a presença de antígeno de *T. gondii*. Avidina-Biotina (— = 10 µm).

DUBEY & FRENKEL (1973), utilizando a cepa M7741, encontraram cistos no cérebro do camundongos, principalmente durante a 3ª semana de infecção; já com a cepa GT-1, DUBEY (1980) observou que a maioria dos camundongos morreu antes que os cistos pudessem ser encontrados no cérebro e, mesmo naqueles camundongos que morreram entre o 21º e 30º DAI, não foram observados cistos no cérebro.

Nas passagens subcutâneas realizadas em camundongos, a partir do isolamento de cérebro e coração de galinha, verificou-se uma diminuição na média dos dias de morte, de 15 dias na primeira passagem para 8-6 dias na quinta passagem. Do mesmo modo, nas inoculações intraperitoneais, houve diminuição de 8 dias na primeira passagem para 3-2 dias nas subseqüentes. Tal diminuição também foi observada por PEIXOTO (1990) em inoculação subcutânea, verificando a variação de 18 dias e 10-8 dias, consecutivamente. DUBEY (1977) afirmou que a virulência de uma determinada cepa de *T. gondii* pode ser aumentada por repetidas passagens em camundongos.

4.2. Caracterização das formas de *Toxoplasma gondii*

4.2.1. Formas Extra-Intestinais

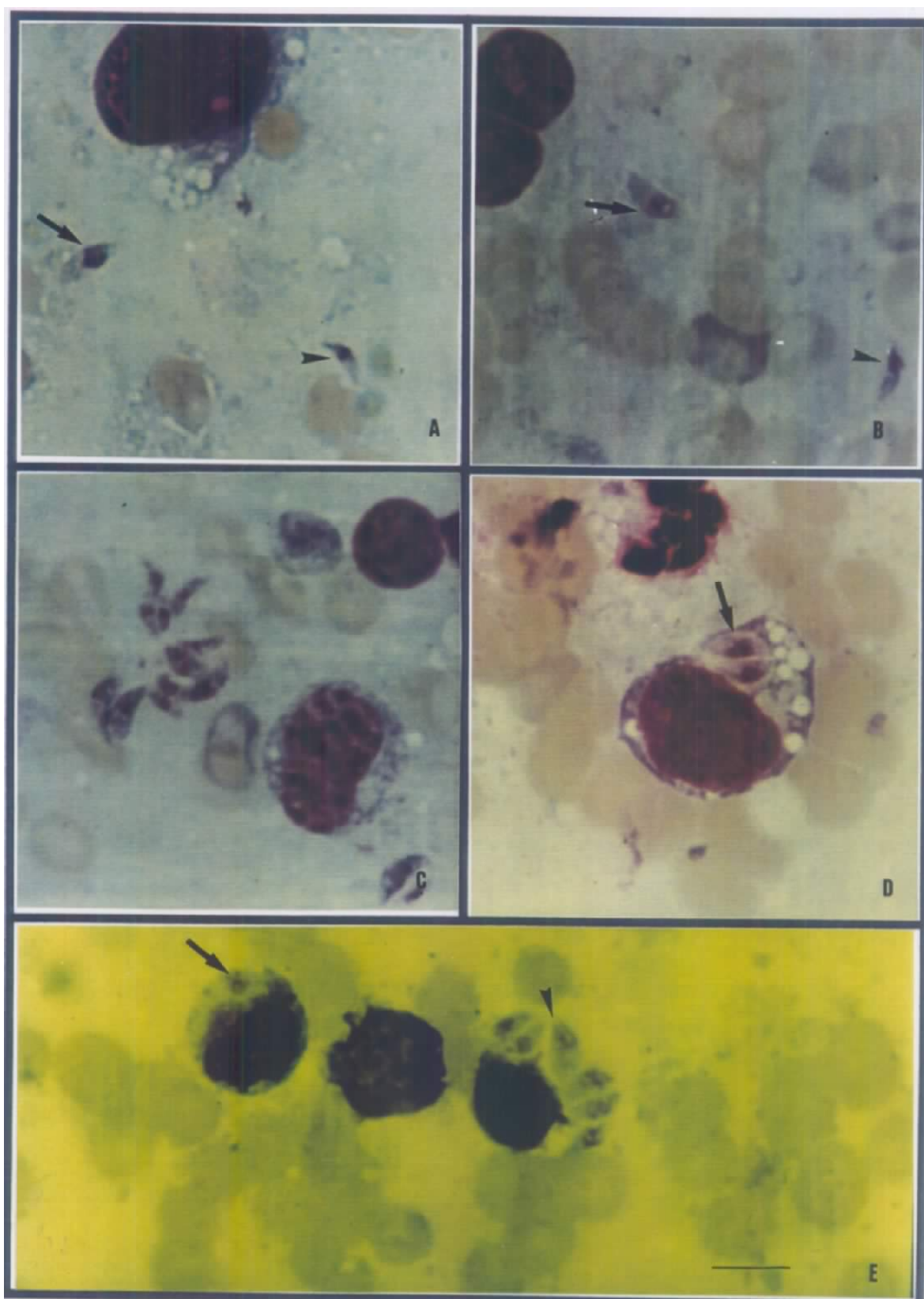
Os taquizoítas observados nas impressões de órgãos (fígado, baço, pulmões, rins e coração) de camundongos foram caracterizados como pleomórficos,

aparecendo com as seguintes formas: finas, largas e extralargas. As formas finas (Figura 2A), foram encontradas predominantemente nos pulmões, sendo as mais freqüentes neste órgão e apresentavam núcleo bem visível na extremidade anterior do parasita. Tanto nos pulmões quanto nos demais órgãos foram observados taquizoítas dentro e fora de macrófagos.

Os macrófagos, na sua maioria, apresentavam-se rompidos, pelo grande número de parasitas no seu interior. Várias formas largas (Figura 2B) com núcleo no terço posterior e central, apresentaram-se com formação em “rosetas” (Figura 2C).

Em todos os órgãos que não os pulmões predominaram formas largas. Já as extralargas apareceram em menor quantidade, com núcleo terminal e, às vezes, central, bem como citoplasma pouco corado ao Giemsa. Quando dentro de macrófagos, estas se apresentavam em pequenos números e, por vezes, foram encontrados macrófagos com dois taquizoítas dentro de um vacúolo parasitóforo (Figura 2D,E). Formas semelhantes foram encontradas por OVERDULVE (1978a,b) em células epiteliais do intestino delgado de gatos.

FIGURA 2. Taquizoítas de *Toxoplasma gondii*: A. formas finas (➤) e em divisão (➡➡); B. largas (➤) e extralarga (➡➡); C. largas em rosetas; D. extralargas no citoplasma de macrófago e E. extralargas num processo de invasão (➡➡) e proliferação (➤). Giemsa (— = 10 μ m).



4.2.2. Morfométrica

Das formas observadas nos esfregaços oriundos de cérebro e de coração tiveram acentuado pleomorfismo, onde suas modificações puderam ser observadas tanto a nível de isolamento quanto na 5ª passagem em camundongos albinos.

As formas oriundas de cérebro foram pleomórficas, caracterizando-se por finas, largas e extralargas. Nas formas finas (Tabela 1), variações podem ser vistas, muitas delas significativas quando se comparou a procedência, se do isolamento ou da 5ª passagem. Tais observações também são válidas para as formas largas (Tabela 2) e para as extralargas (Tabela 3). Estas, já mencionadas anteriormente, não foram observadas nos pulmões.

Os zoítas obtidos no isolamento do coração de galinha tiveram medidas semelhantes às observadas para os isolados de cérebro. Diferenças significativas foram observadas quando se comparou as formas finas (Tabela 4), obtidas em diversos órgãos entre os períodos isolamento e a 5ª passagem. Mesma situação foi observada para zoítas largos (Tabela 5) e os extralargos (Tabela 6).

Na literatura consultada não encontrou-se descrição de variação morfológica de taquizoítas em função de órgãos parasitados no hospedeiro intermediário.

TABELA 1. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do *Toxoplasma gondii* inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do cérebro de galinha naturalmente infectada.

Órgãos	Finos (μm) ^a			
	Isolamento		5ª passagem	
	DM	dm	DM	dm
Fígado	$5,61 \pm 0,60^d$	$1,55 \pm 0,35$ (19) ^{cd}	$5,51 \pm 0,59^d$	$1,58 \pm 0,29$ (17) ^d
Baço	$5,68 \pm 0,65^d$	$1,64 \pm 0,30$ (12) ^b	$5,53 \pm 0,56^d$	$1,48 \pm 0,29$ (10) ^b
Pulmões	$5,50 \pm 0,54^b$	$1,40 \pm 0,28$ (20) ^b	$5,34 \pm 0,62^b$	$1,48 \pm 0,34$ (20) ^b
Rins	$5,86 \pm 0,78^b$	$1,45 \pm 0,36$ (22) ^b	$5,46 \pm 0,61^b$	$1,56 \pm 0,30$ (24) ^b
Coração	$5,99 \pm 0,60^b$	$1,69 \pm 0,23$ (11) ^b	$5,49 \pm 0,54^b$	$1,52 \pm 0,35$ (11) ^b

^a Diâmetro maior (DM) e menor (dm).

^b $P \leq 0,005$.

^c Número de parasito medido entre parênteses.

^d Não significativo.

TABELA 2. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do *Toxoplasma gondii* inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do cérebro de galinha naturalmente infectada.

Órgãos	Largos (μm) ^a			
	Isolamento		5ª passagem	
	DM	dm	DM	dm
Fígado	$5,79 \pm 0,61^d$	$2,49 \pm 0,26 (19)^{cd}$	$5,71 \pm 0,51^d$	$2,50 \pm 0,28 (17)^d$
Baço	$5,71 \pm 0,62^d$	$2,41 \pm 0,18 (12)^d$	$5,65 \pm 0,60^d$	$2,42 \pm 0,21 (10)^d$
Pulmões	$5,57 \pm 0,54^d$	$2,45 \pm 0,28 (20)^d$	$5,67 \pm 0,51^d$	$2,42 \pm 0,29 (20)^d$
Rins	$5,49 \pm 0,49^d$	$2,47 \pm 0,28 (22)^b$	$5,60 \pm 0,60^b$	$2,40 \pm 0,30 (24)^b$
Coração	$5,91 \pm 0,74^b$	$2,58 \pm 0,25 (11)^b$	$5,49 \pm 0,24^b$	$2,40 \pm 0,24 (11)^b$

^a Diâmetro maior (DM) e menor (dm).

^b $P \leq 0,005$.

^c Número de parasito medido entre parênteses.

^d Não significativo.

TABELA 3. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do *Toxoplasma gondii* inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do cérebro de galinha naturalmente infectada.

Órgãos	Extralargos (μm) ^a			
	Isolamento		5ª passagem	
	DM	dm	DM	dm
Fígado	$6,47 \pm 0,37^d$	$3,77 \pm 0,48$ (19) ^{cb}	$6,38 \pm 0,45^d$	$3,55 \pm 0,48$ (17) ^b
Baço	$6,38 \pm 0,34^d$	$3,67 \pm 0,43$ (12) ^b	$6,45 \pm 0,38^d$	$3,47 \pm 0,32$ (10) ^b
Pulmões	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.
Rins	$6,45 \pm 0,37^b$	$3,52 \pm 0,41$ (22) ^d	$6,31 \pm 0,36^b$	$3,54 \pm 0,37$ (24) ^d
Coração	$6,45 \pm 0,40^b$	$3,98 \pm 0,48$ (11) ^b	$6,31 \pm 0,30^b$	$3,30 \pm 0,27$ (11) ^b

^a Diâmetro maior (DM) e menor (dm).

^b $P \leq 0,005$.

^c Número de parasito medido entre parênteses.

^d Não significativo.

n.o. = não observado.

TABELA 4. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do *Toxoplasma gondii* inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do coração de galinha naturalmente infectada.

Órgãos	Finos (μm) ^a			
	Isolamento		5ª passagem	
	DM	dm	DM	dm
Fígado	$5,74 \pm 0,64^d$	$1,55 \pm 0,32$ (13) ^{cb}	$5,60 \pm 0,65^d$	$1,74 \pm 0,25$ (11) ^b
Baço	$5,53 \pm 0,69^d$	$1,75 \pm 0,17$ (7) ^d	$5,49 \pm 0,23^d$	$1,77 \pm 0,20$ (8) ^d
Pulmões	$5,80 \pm 0,81^d$	$1,51 \pm 0,34$ (20) ^b	$5,51 \pm 0,37^d$	$1,52 \pm 0,36$ (20) ^b
Rins	$5,51 \pm 0,74^b$	$1,55 \pm 0,34$ (16) ^d	$5,81 \pm 0,75^b$	$1,50 \pm 0,32$ (19) ^d
Coração	$5,83 \pm 0,85^b$	$1,55 \pm 0,32$ (13) ^d	$5,56 \pm 0,22^b$	$1,64 \pm 0,33$ (8) ^d

^a Diâmetro maior (DM) e menor (dm).

^b $P \leq 0,005$.

^c Número de parasito medido entre parênteses.

^d Não significativo.

TABELA 5. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do *Toxoplasma gondii* inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do coração de galinha naturalmente infectada.

Órgãos	Largos (μm) ^a			
	Isolamento		5 ^a passagem	
	DM	dm	DM	dm
Fígado	$6,00 \pm 0,81^b$	$2,39 \pm 0,24$ (13) ^{cd}	$5,62 \pm 0,82^b$	$2,38 \pm 0,28$ (11) ^d
Baço	$5,75 \pm 0,66^d$	$2,40 \pm 0,25$ (7) ^d	$5,83 \pm 0,71^d$	$2,38 \pm 0,27$ (8) ^d
Pulmões	$5,74 \pm 0,50^b$	$2,49 \pm 0,30$ (20) ^d	$5,53 \pm 0,29^b$	$2,52 \pm 0,27$ (20) ^d
Rins	$5,20 \pm 0,34^b$	$2,48 \pm 0,29$ (16) ^d	$5,71 \pm 0,53^b$	$2,53 \pm 0,27$ (19) ^d
Coração	$5,66 \pm 0,27^b$	$2,48 \pm 0,29$ (13) ^d	$5,82 \pm 0,62^b$	$2,44 \pm 0,32$ (8) ^d

^a Diâmetro maior (DM) e menor (dm).

^b $P \leq 0,005$.

^c Número de parasito medido entre parênteses.

^d Não significativo.

TABELA 6. Aspectos comparativos das medidas de zoítas de uma amostra do *Toxoplasma gondii* inoculados por via subcutânea em camundongos albinos, isolada do coração de galinha naturalmente infectada.

Órgãos	Extralargos (μm) ^a			
	Isolamento		5 ^a passagem	
	DM	dm	DM	dm
Fígado	$6,42 \pm 0,39^d$	$3,61 \pm 0,38$ (13) ^{cd}	$0,36 \pm 0,33^d$	$3,70 \pm 0,43$ (11) ^d
Baço	$6,27 \pm 0,38^d$	$3,48 \pm 0,28$ (7) ^d	$6,36 \pm 0,44^d$	$3,50 \pm 0,34$ (8) ^d
Pulmões	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.
Rins	$6,38 \pm 0,36^d$	$3,61 \pm 0,49$ (16) ^d	$6,37 \pm 0,35^d$	$3,53 \pm 0,40$ (19) ^d
Coração	$6,46 \pm 0,31^d$	$3,41 \pm 0,25$ (13) ^d	$6,39 \pm 0,42^d$	$3,43 \pm 0,28$ (8) ^d

^a Diâmetro maior (DM) e menor (dm).

^b $P \leq 0,005$.

^c Número de parasito medido entre parênteses.

^d Não significativo.

n.o. = não observado.

As observações mencionadas acima, embora não fossem relatadas por FRENKEL (1971); DUBEY (1977); PEIXOTO (1990) ou mesmo por SCHOLTYSECK & PIEKARSKI (1965) quando estes últimos utilizaram da microscopia, eletrônica estiveram dentro dos limites de variações observadas para os taquizoítas de *T. gondii*.

4.2.3. Sorológica

Na tabela 7, observa-se que não houve modificações no TIFI quando se compararam os antígenos procedentes de cérebro e coração de galinhas naturalmente infectadas juntos à cepa “C” para IgM. Porém, quanto à IgG das amostras isoladas de galinha, notou-se uma tendência a obter títulos mais elevados do que a cepa “C”, que é mantida no laboratório em camundongos albinos por mais de 20 anos. FISZMAN & COUTINHO (1980) usaram quatro cepas do *T. gondii*, separadamente, em TIFI, com a finalidade de verificar a influência nos títulos de anticorpos séricos humanos. Uma das amostras, isolada de caso congênito humano, cepa “C”, apresentou uma tendência a obter títulos de IgG, mais elevados do que as outras três cepas do parasita. Outro fato importante foi que, nos testes realizados com preparações das amostras isoladas do cérebro e coração, os zoítas mostraram-se mais brilhantes em comparação com os da cepa “C”, quando utilizados para o TIFI. Sendo assim, o soro dos animais

TABELA 7. Aspectos sorológicos ao TIFI de amostras isoladas de uma galinha naturalmente infectada frente a cepa “C” de *Toxoplasma gondii* mantida em camundongos albinos.

Soro de camundongos	Amostras				Cepa C	
	Cérebro		Coração		IgM	IgG
	IgM	IgG	IgM	IgG		
1	1:64	1:256	1:64	1:64	1:64	1:64
2	1:64	1:1024	1:64	1:256	1:64	1:64
3	1:64	1:256	1:64	1:256	1:64	1:64

inoculados com material do cérebro e do coração reagiram positivamente quando se utilizou antígeno da cepa “C”, podendo, então ser afirmado que o parasita isolado da ave foi *T. gondii*.

4.2.4. Microscopia eletrônica

Características semelhantes observadas à microscopia eletrônica por SOUZA (1974) e NICHOLAS & O’CONNOR (1981) quando trabalharam com a cepa RH, foram encontradas nas amostras isoladas, do coração (Figura 3A) e do cérebro (Figura 3B) e mesmo quando comparadas com a cepa “C” (Figura 3C).

4.3. Distribuição dos zoítas de *Toxoplasma gondii* em órgãos de camundongos

A distribuição de zoítas por órgãos de camundongos, observadas nas amostras do cérebro e coração de galinha, mostrou variações, apresentando três formas características. Observam-se, na figura 4, que as formas extralargas de *T. gondii* isoladas de cérebro de galinha apareceram em todos os órgãos examinados, à exceção dos pulmões, onde formas finas apareceram em maior quantidade e, também, maior número de macrófagos. Quando observado, o isolamento de coração, foi confirmada a presença uniforme de zoítas largos com predominância das formas finas nos pulmões (Figura 5). Posto isso, não ocorrem modificações acentuadas dos

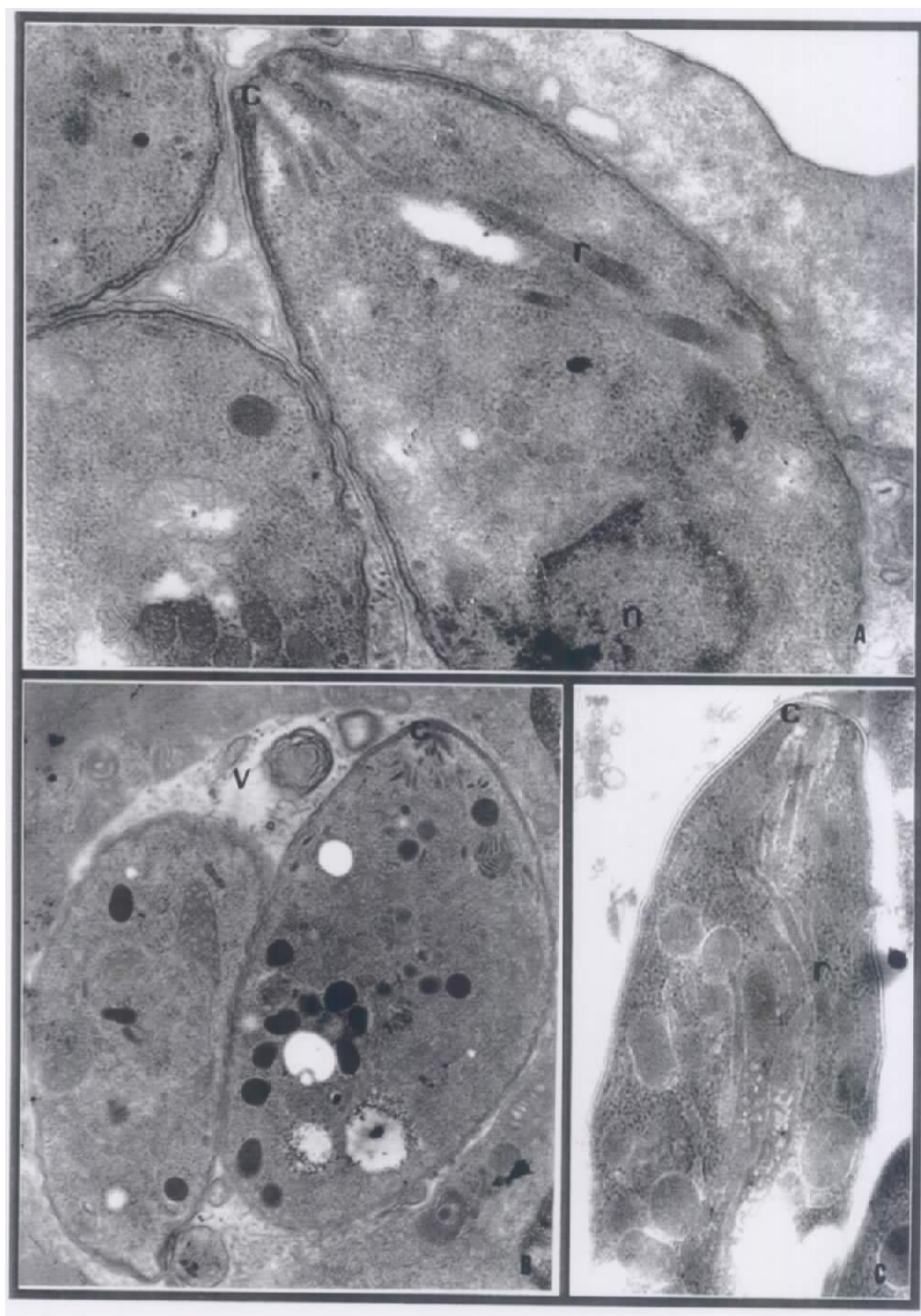


FIGURA 3. Microscopia eletrônica de tachizoítas de *Toxoplasma* em macrófagos peritoneais de camundongos albinos: A. amostra procedente de cérebro (— = 32.900X), conóide (c), roptrias (r) e núcleo (n); B. amostra procedente de coração (— = 7.300X), conóide (c), vácuolo parasitóforo (v); C. cepa “C” (— = 7.300X), conóide (c) e roptrias (r).

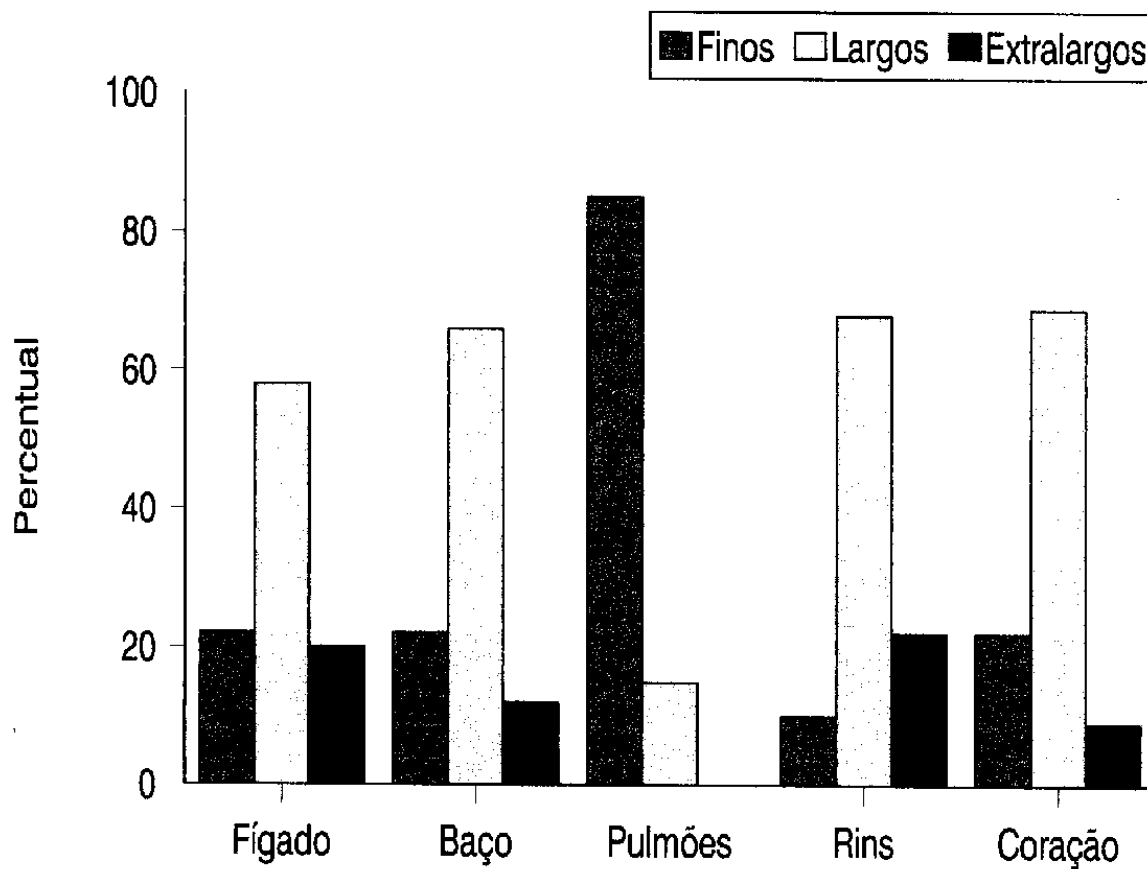


FIGURA 4. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de *Toxoplasma gondii* isolada de cérebro de galinha naturalmente infectada.

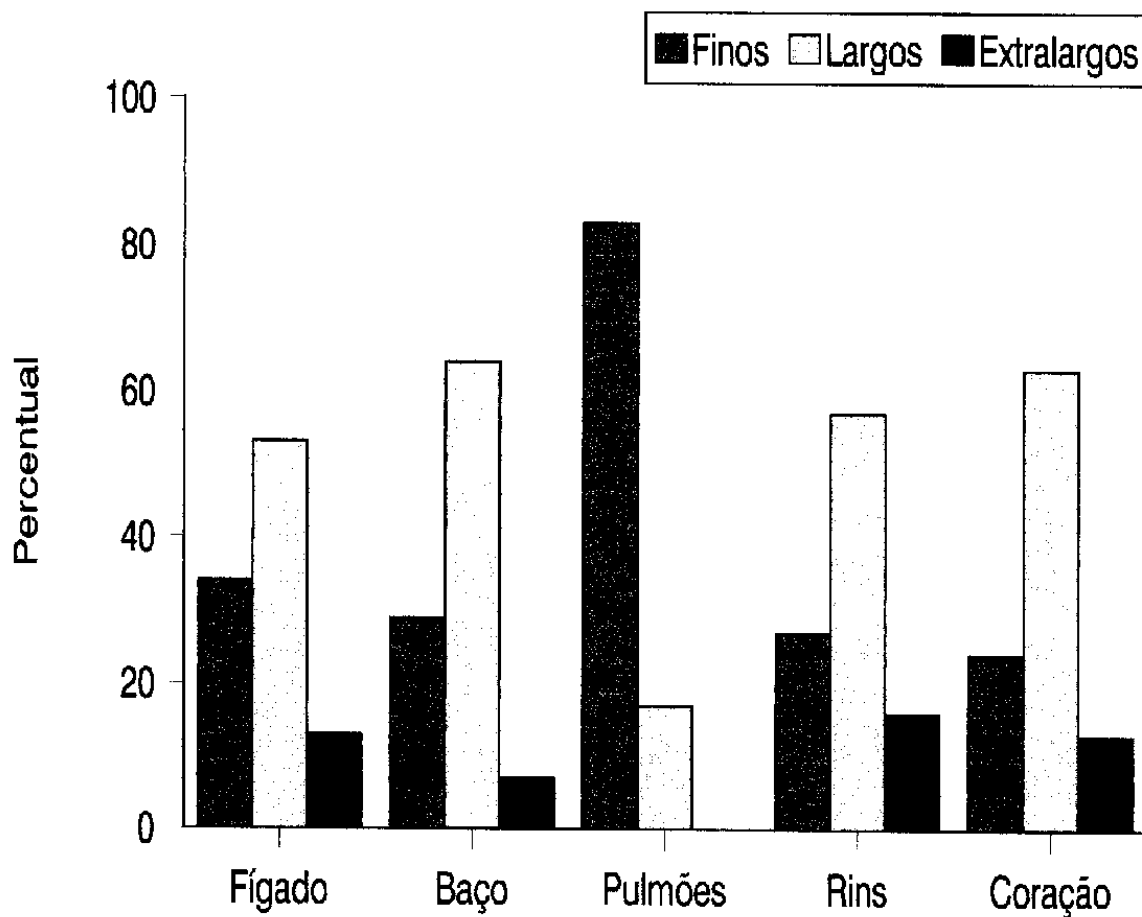


FIGURA 5. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de *Toxoplasma gondii* isolada de coração de galinha naturalmente infectada.

tipos de zoítas nos órgãos, sejam eles procedentes do isolado de cérebro ou do coração de galinha e inoculados em camundongos albinos

Quando se observa a figura 6, na 5ª passagem, com material oriundo do cérebro de galinha nota-se a predominância das formas largas. Já nos pulmões não se pode afirmar que as largas, embora aparessem em maior número, do que no isolamento, sejam predominantes, pois as formas finas ainda aparecem em maior número. Porém, ao se avaliar os isolados de coração, não se observou uma variação tão brusca (Figura 7) quanto às observadas anteriormente para as formas isoladas de cérebro e coração e para a 5ª passagem dos isolados de coração, persistindo, no entanto, maior número de formas finas nos pulmões. As formas extralargas, apesar de serem menos freqüentes, foram observadas em maior número no fígado e rins, independentemente de serem do isolamento ou da 5ª passagem.

Observando-se separadamente cada uma das formas, as finas obtidas no isolamento de cérebro preponderaram, quando comparadas com as finas isoladas do coração (Figura 8). Da mesma maneira, observa-se que os zoítas finos localizados no fígado do camundongo são em maior número na 5ª passagem do material procedente do cérebro de galinha. Em relação aos do isolamento do mesmo (Figura 9), nota-se uma certa alternância, porém a maior concentração de formas finas está nos pulmões. Tal colocação já foi feita por PEIXOTO (1990), quando afirmou que formas encontradas nos pulmões estão associadas a uma pneumonia intersticial difusa em camundongos albinos

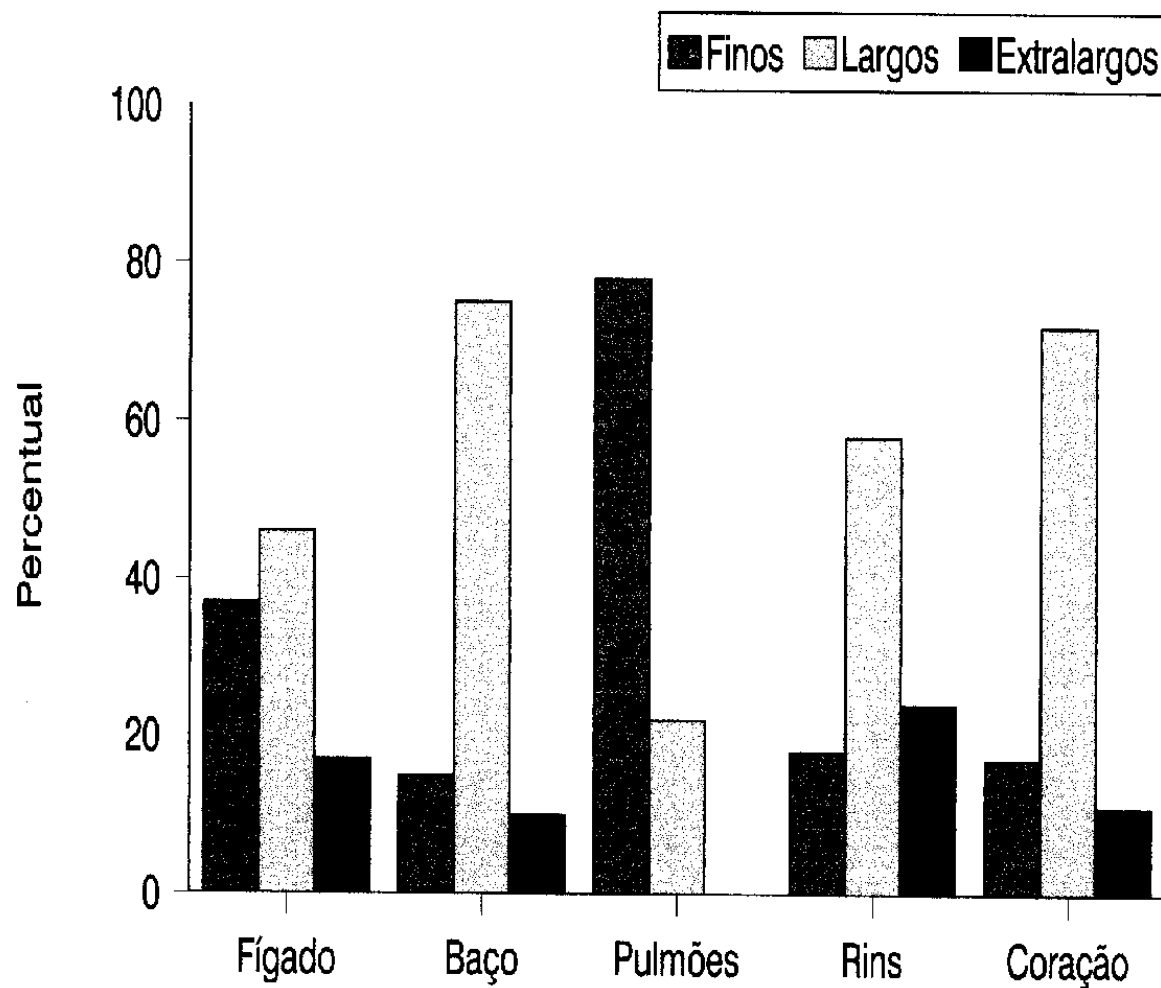


FIGURA 6. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de *Toxoplasma gondii* da 5ª passagem de cérebro de galinha naturalmente infectada.

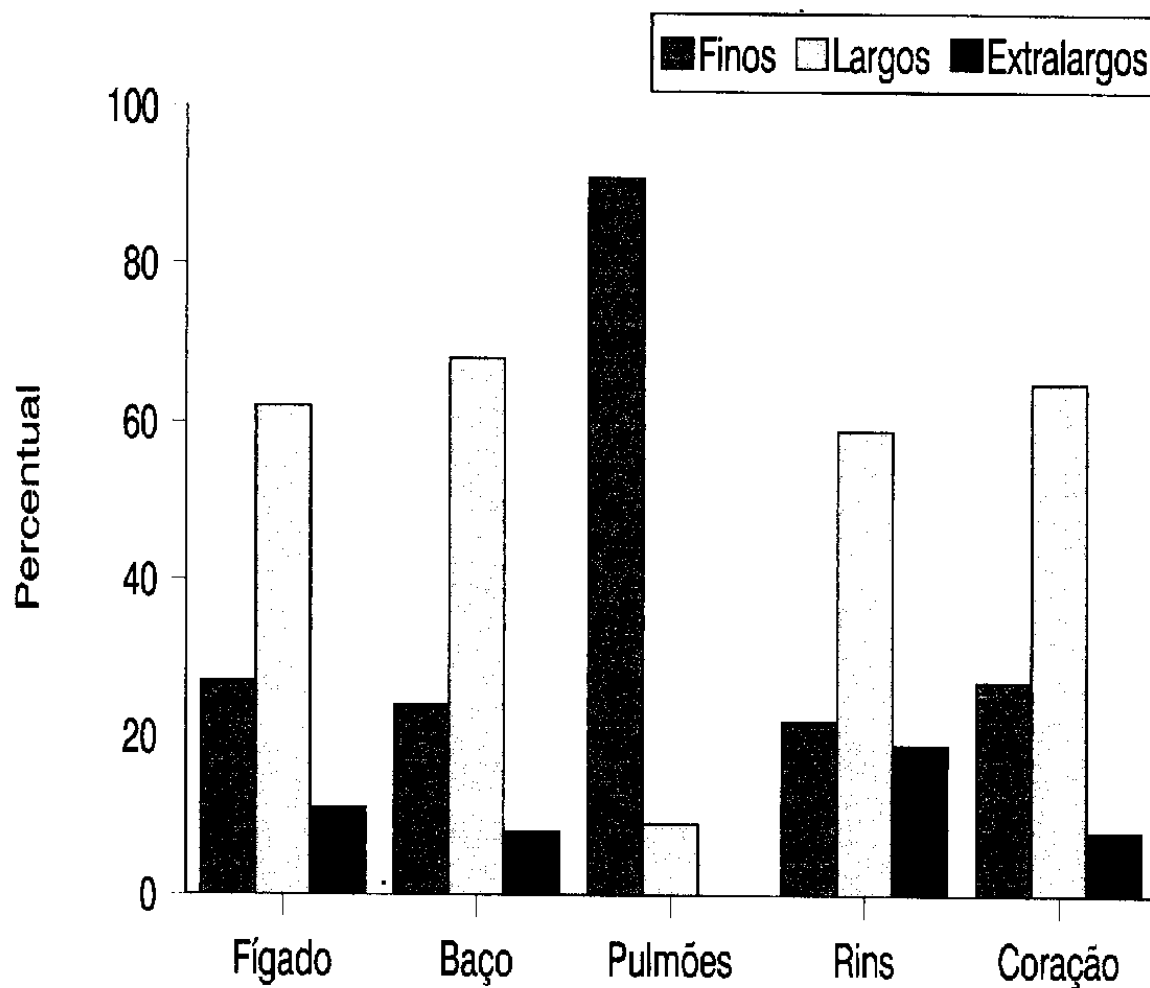


FIGURA 7. Distribuição de zoítas em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente com uma amostra de *Toxoplasma gondii* da 5ª passagem de coração de galinha naturalmente infectada.

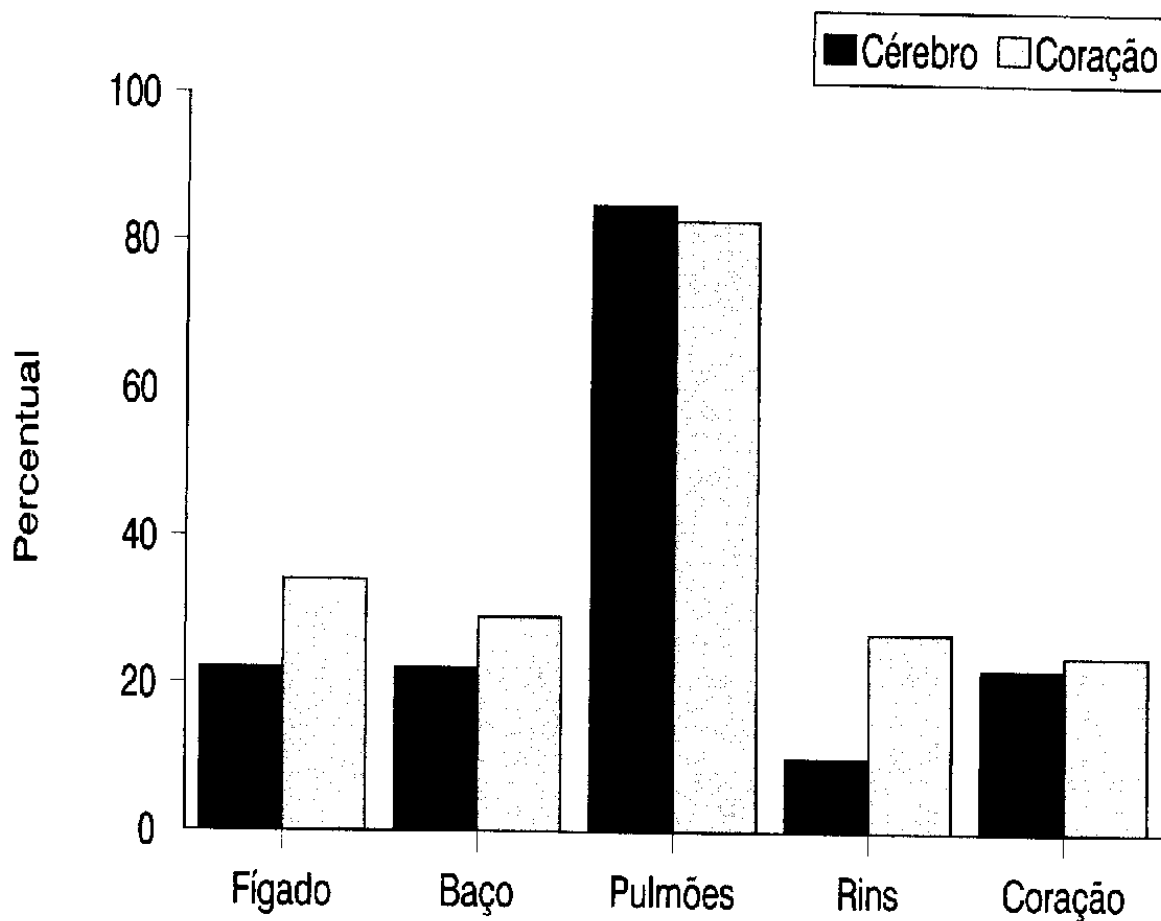


FIGURA 8. Distribuição de zoítas finos de *Toxoplasma gondii* isolados de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

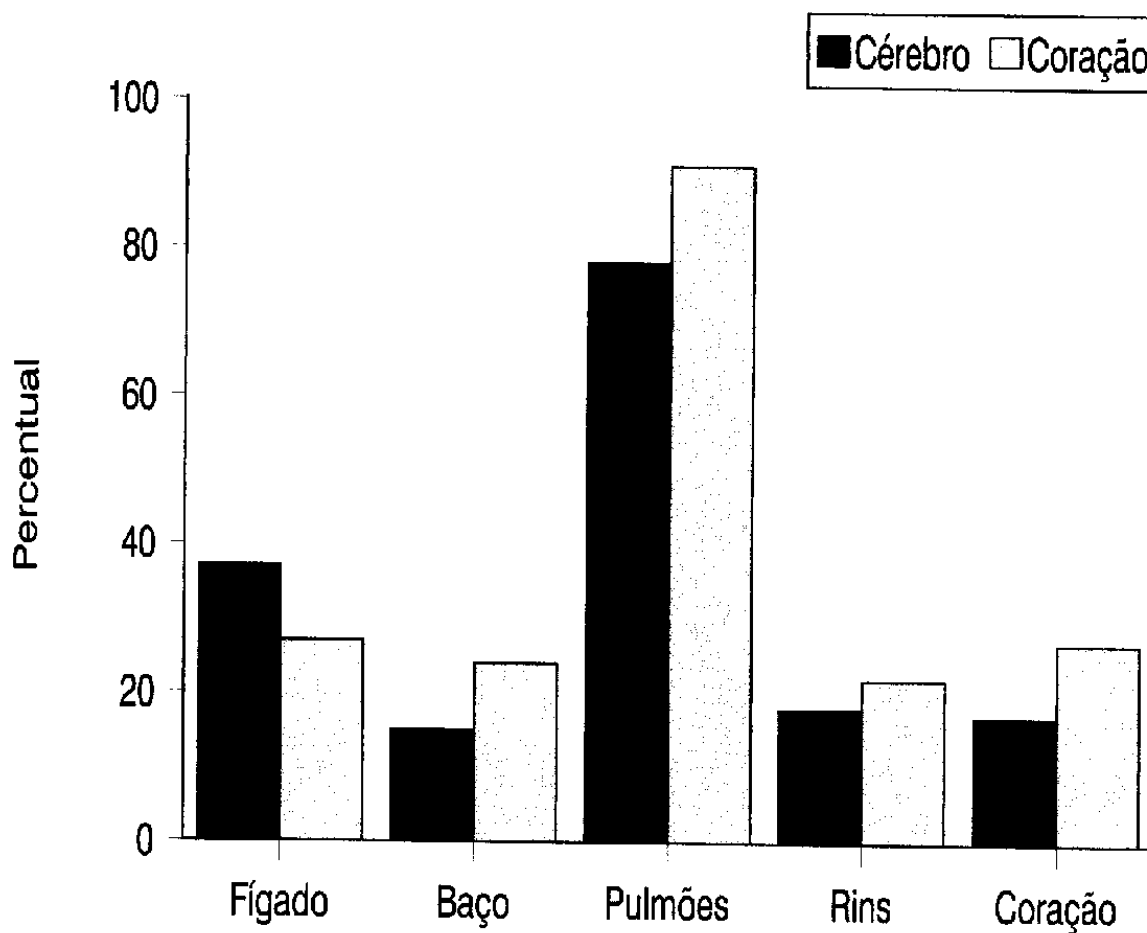


FIGURA 9. Distribuição de zoítas finos de *Toxoplasma gondii* da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

inoculados com uma amostra de *T. gondii* também isolada de galinhas naturalmente infectadas.

As formas largas tiveram menor concentração nos pulmões, independentemente do órgão de origem do parasita, se o cérebro ou o coração. Todavia, foram bem expresivas nos demais órgãos examinados, embora elas tenham se alternado quando se levou em consideração os órgãos examinados, a origem dos isolados e o tempo de inoculação (Figura 10 e 11).

Nas figuras 12 e 13 observa-se a maior concentração de formas extralargas nos rins e no fígado, a qual aumentou ao longo das passagens.

4.4. Distribuição de macrófagos com zoítas de *Toxoplasma gondii*

A distribuição de macrófagos positivos por órgãos de camundongos mostrou variação quanto à origem da amostra, se cérebro ou coração, como também do período de infecção. No isolamento e na 5ª passagem de coração os órgãos apresentaram maior percentagem de positividade quando comparados com isolamento e 5ª passagem de cérebro, com exceção dos pulmões, que apresentaram 28% no isolamento de cérebro e o coração de camundongos, que apresentou 29% no material procedente de cérebro de galinha da 5ª passagem. A maior positividade foi encontrada no baço, tanto para o isolamento (43%), quanto para a 5ª passagem (45%) do material do coração de galinha (Figuras 14 e 15).

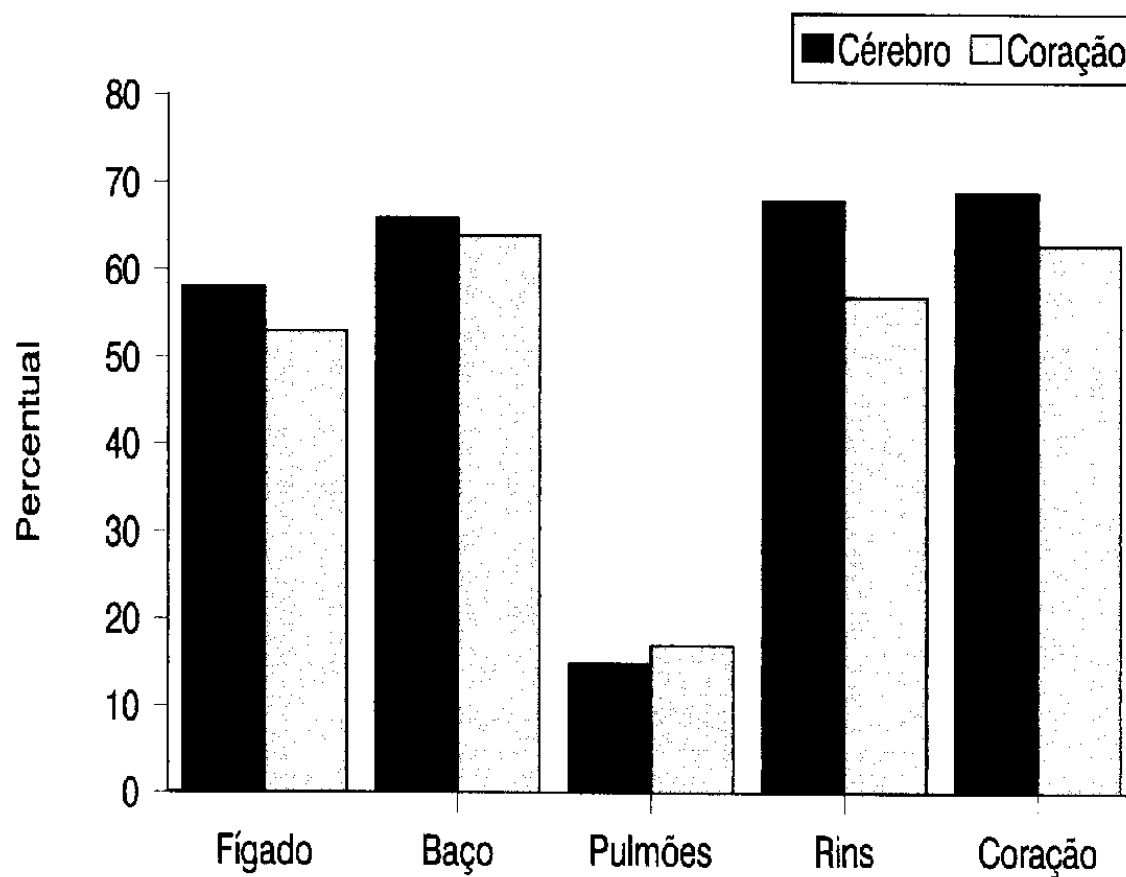


FIGURA 10. Distribuição de zoítas largas de *Toxoplasma gondii* isolados de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

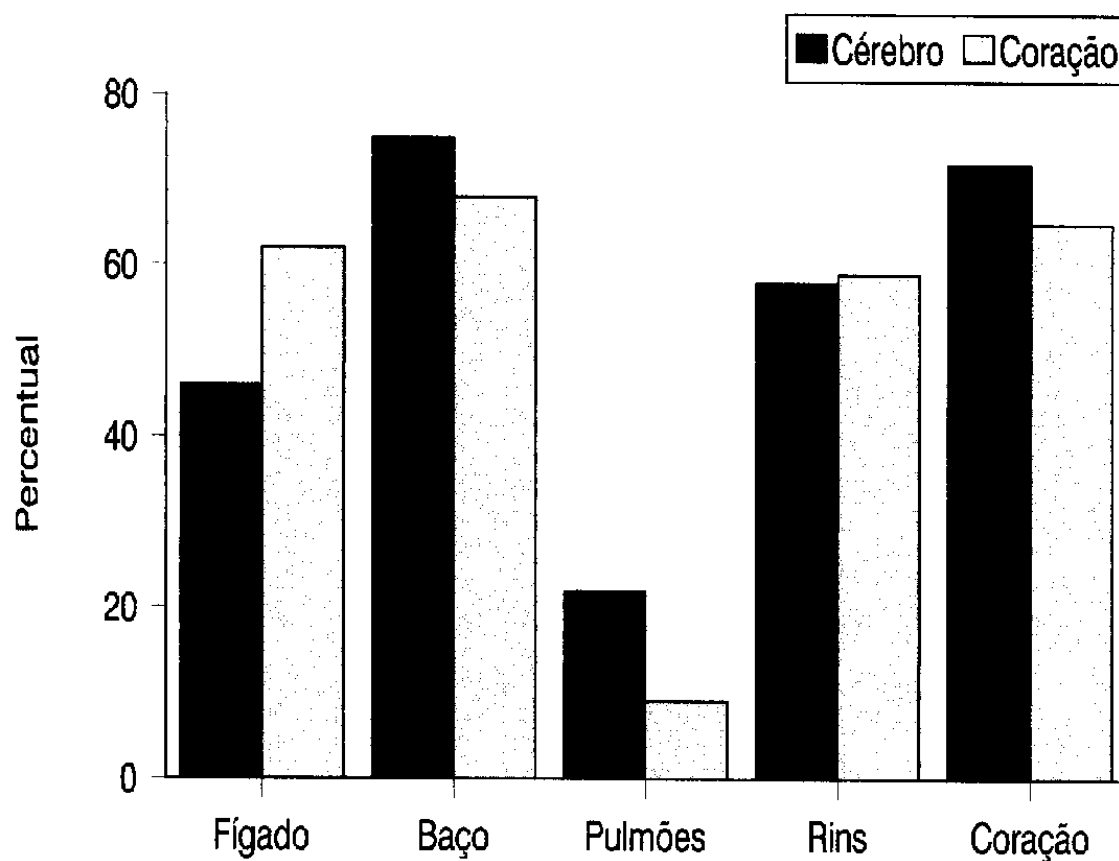


FIGURA 11. Distribuição de zoítas largas de *Toxoplasma gondii* da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

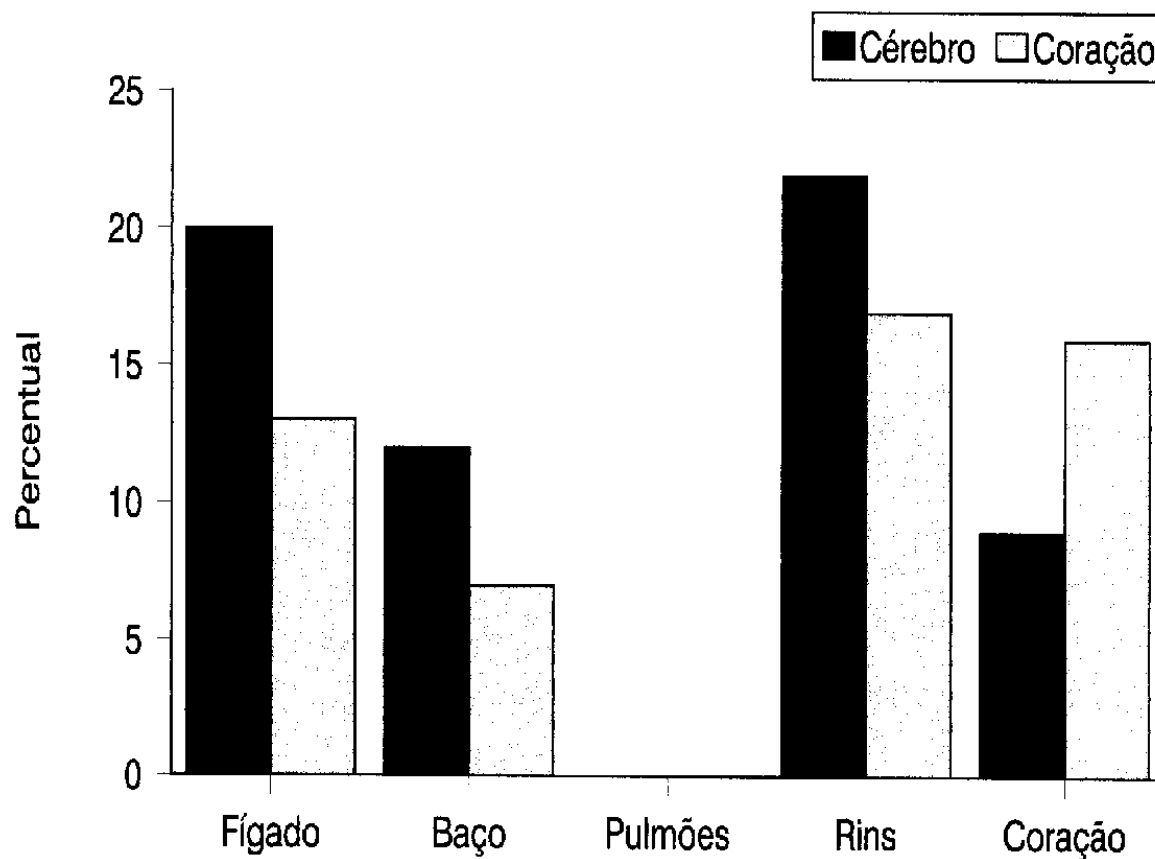


FIGURA 12. Distribuição de zoítas extralargos de *Toxoplasma gondii* isolados de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

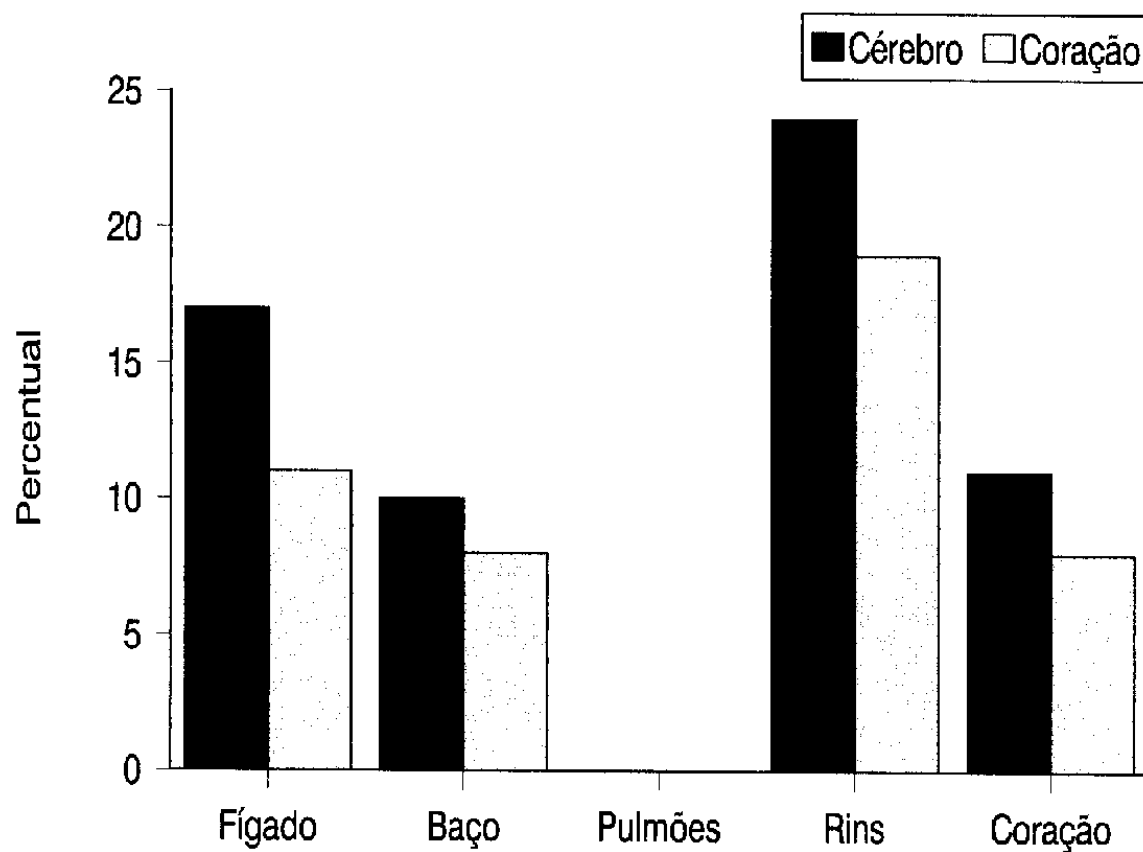


FIGURA 13. Distribuição de zoítas extralargos de *Toxoplasma gondii* da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

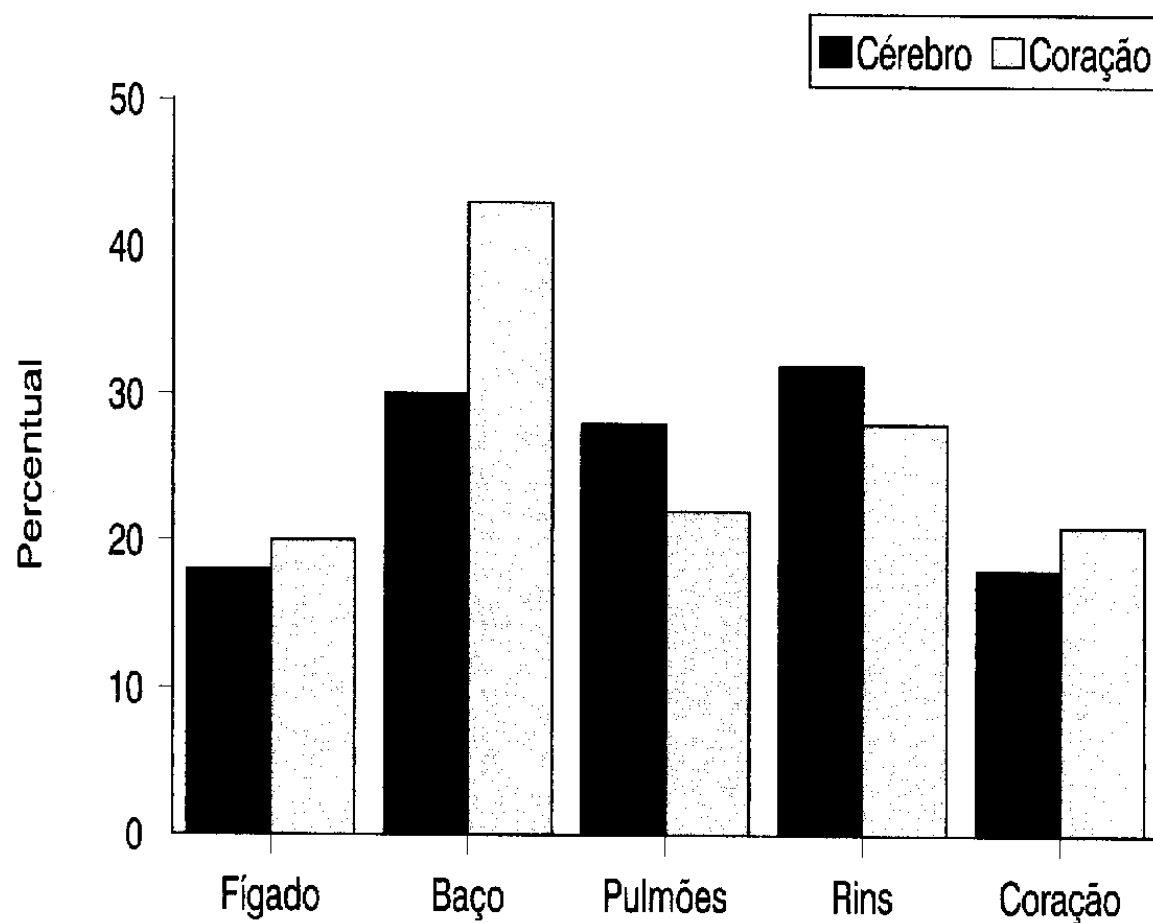


FIGURA 14. Distribuição de macrófagos com zoítas de uma amostra de *Toxoplasma gondii* isolada de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

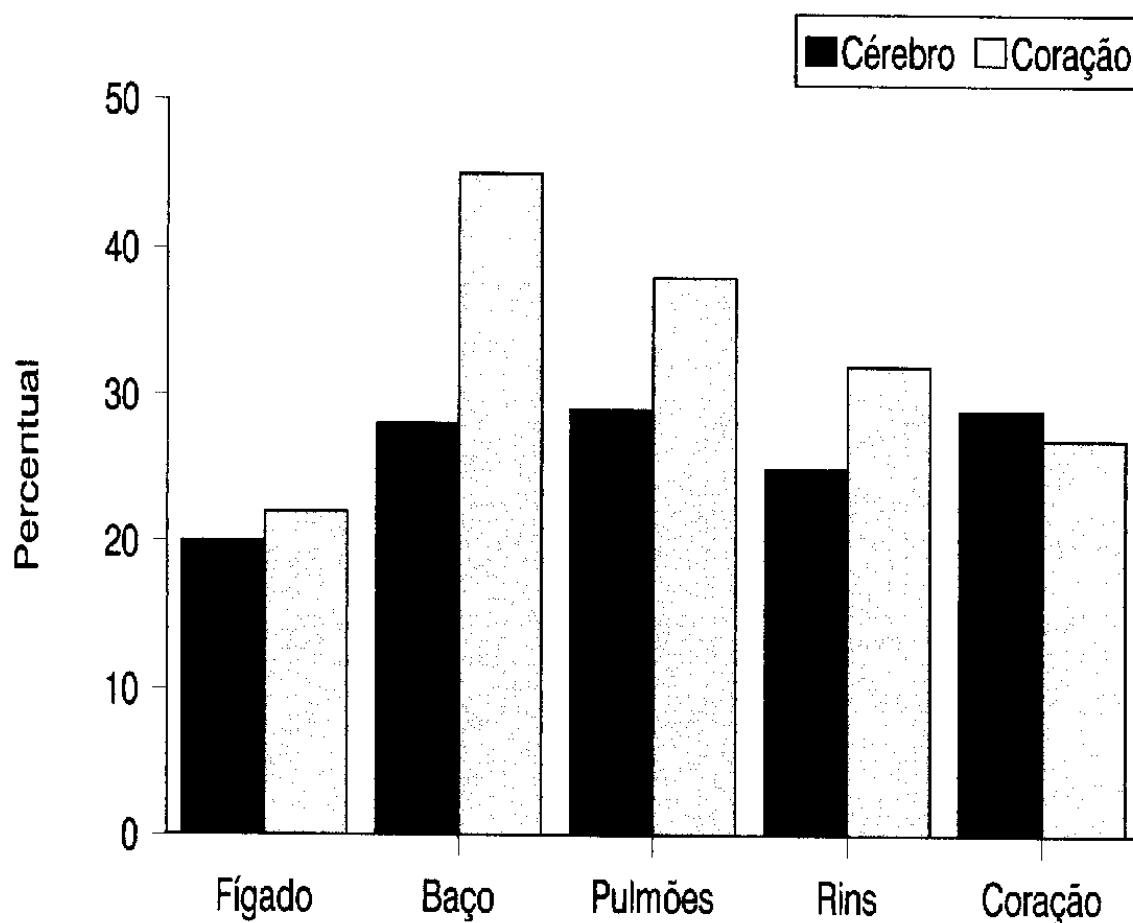


FIGURA 15. Distribuição de macrófagos com zoítas de uma amostra de *Toxoplasma gondii* da 5ª passagem de cérebro e coração de galinha naturalmente infectada em órgãos de camundongos albinos infectados experimentalmente.

5. CONCLUSÕES

1. Os taquizoítas de amostras de *T. gondii* isoladas de galinha naturalmente infectada, estudados neste trabalho foram caracterizados como formas extra-intestinais de *T. gondii*. A afirmativa foi tomada com base no desenvolvimento biológico, presença de complexo apical e roptrias observadas à Microscopia Eletrônica, pela reação da Avidina-Biotina e pela Técnica de Imunofluorescência Indireta.

2. Dos taquizoítas estudados foram identificadas três formas distintas caracterizadas por zoítas finos, largos e extralargos. Verificou-se que estas formas variaram de acordo com o órgão parasitado, sendo que nos pulmões não foram observados zoítas extralargos, seja para o material procedente de cérebro, bem como para os de coração, predominando neste órgão as formas finas.

3. As variações observadas nas medidas dos diâmetros maior e menor das formas finas, largas e extralargos foram significantes ao se comparar com os

zoítas obtidos no isolamento e os da 5ª passagem, demonstrando que, com as passagens as formas também se modificam, caracterizando, com isso, o seu pleomorfismo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBROISE-THOMAS, P. & PELLOUX, H. 1993. Toxoplasmosis - congenital and immunocompromised patients: a parallel. *Parasitol. Today*, 9:61-63.
- ARAUJO, F.G.; DUBEY, J.P. & REMINGTON, J.S. 1984. Antigenic similarity between the coccidian parasites: *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi*. *J. Protozool.*, 31:145-147.
- ARAUJO, F.G.; WONG, M.M.; THEIS, J. & REMINGTON, J.S. 1973. Experimental *Toxoplasma gondii* infection in a nonhuman primate. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 22:465-472.
- BEVERLEY, J.K.A. 1976. Toxoplasmosis in animals. *Vet. Rec.*, 99:123-127.

- CARINI, A. 1909. Reproduction expérimentale de la toxoplasmose du lapin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 2:465-469.
- CARINI, A. 1911. Infection spontanée du pigeon et du chien due an *Toxoplasma cuniculi*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 4:518-519.
- CASTELLANI, A. 1914. Note on certain protozoa - like bodies in a case of protracted fever with splenomegaly. *J. Trop. Med. Hyg.*, 17:113-114.
- DUBEY, J.P. 1977. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming Coccidia of man and animals. In: KREIER, J.P. *Parasitic Protozoa. Gregarines, Haemogregarines, Coccidia, Plasmodia and Haemoproteids*. Academic Press, N. York, 3, 563 p.
- DUBEY, J.P. 1980. Mouse pathogenicity of *Toxoplasma gondii* isolated from a goat. *Am. J. Vet. Res.*, 41:427-429.
- DUBEY, J.P. 1981a. Prevention of abortion and neonatal death due to toxoplasmosis by vaccination of goats with the nonpathogenic coccidium *Hammondia hammondi*. *Am. J. Vet. Res.*, 42: 2155-2157.

- DUBEY, J.P. 1981b. Protective immunity against clinical toxoplasmosis in dairy goats vaccinated with *Hammondia hammondi* and *Hammondia heydorni*. *Am. J. Vet. Res.*, 42:2068-2070.
- DUBEY, J.P.; CAMARGO, M.E.; RUFF, M.D.; WILKINS, G.C.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H. & THULLIEZ, P. 1993. Experimental toxoplasmosis in Turkeys. *J. Parasitol.* 79:949-952.
- DUBEY, J.P. & FRENKEL, J.K. 1972. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozool.*, 19:155-177.
- DUBEY, J.P. & FRENKEL, J.K. 1973. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. *J. Parasitol.*, 59:505-512.
- DUBEY, J.P. & FRENKEL, J.K. 1976. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J. Protozool.*, 23:537-546.
- DUBEY, J.P.; GOODWIN, M.A.; RUFF, M.D.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; WILKINS, G.L. & THULLIEZ, P. 1995. Experimental toxoplasmosis in chukar partridges (*Alectoris graeca*). *Avian Pathol.*, 24:95-107.

- DUBEY, J.P. & HARTLEY, W.J. 1993. Disseminated coccidiosis in short-beaked echidnias (*Tachyglossus aculeatus*) from Australia. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 5:483-488.
- DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. & FRENKEL, J.K. 1970a. The *Toxoplasma gondii* oocysts from cats feces. *J. Exp. Med.*, 132:639-662.
- DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. & FRENKEL, J.K. 1970b. Characterization of new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.*, 56:447-456.
- DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. & FRENKEL, J.K. 1970c. *Toxoplasma gondii* life cycle in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 157:1767-1770.
- DUBEY, J.P.; RUFF, M.D.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; WILKINS, G.C. & HULLIEZ, P. 1993. Experimental toxoplasmosis in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *J. Parasitol.*, 79: 935-939.
- DUBEY, J.P.; RUFF, M.D.; WILKINS, G.C.; SHEN, S.K. & KWOK, O.C.H. 1994. Experimental toxoplasmosis in pheasants (*Phasianus cochicus*). *J. Wild. Dis.*, 30: 40-45.

DUBEY, J.P.; SHARMA, S.P.; LOPES, C.W.G.; WILLIAMS, J.F.; WILLIAMS, C.S.F. & WEINSBRODE, S.E. 1980. Caprine toxoplasmosis: abortion, clinical signs, and distribution of *Toxoplasma* in tissues of goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 1072-1076.

DUBEY, J.P.; STUART, L. P.; TSENG, F.; SHEN, S.K. & THULLIEZ, P. 1992. Induced toxoplasmosis in owls. *J. Zoo. Wild. Med.*, 23: 98-102.

FIBGE, 1985. *Censo Agropecuário*. 20. IBGE. Rio de Janeiro, 370 p.

FISZMAN, M. & COUTINHO, S.G. 1980. Estudo da reprodutividade da reação de imunofluorescência indireta para a pesquisa de anticorpos séricos para *Toxoplasma gondii*, utilizando-se quatro cepas diferentes do parasito como antígeno. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 75:89-97.

FOSTER, B.G.; FORREST, R.G. & BLANCO, J.K. 1969. Isolation of *Toxoplasma gondii* from naturally infected chickens. *Texas J. Sc.* 20: 323-328.

FRENKEL, J.K. 1956. Pathogenesis of toxoplasmosis and of infections with organisms resembling *Toxoplasma*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 64:215-251.

- FRENKEL, J.K. 1971. Toxoplasmosis: mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. *Curr. Top. Pathol.*, Berlin, 54:29-75.
- FRENKEL, J.K. 1973. Toxoplasmosis: parasite, life cycle, pathology and immunology. In: HAMMOND, D.M. & LONG, P.L. *The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma and Related Genera*. University Park Press, Baltimore, 482 p.
- FRENKEL, J.K. 1974. Advances in the biology of sporozoa. *Z. Parasitenkd*, 45:125-162.
- FRENKEL, J.K. 1977. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. *J. Parasitol.*, 63:611-628.
- FRENKEL, J.K. 1986. La inmunidad en la toxoplasmosis. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 100: 283-299.
- FRENKEL, J.K. 1988. Pathophysiology of toxoplasmosis. *Parasitol. Today*, 4: 273-

- FRENKEL, J.K. & DUBEY, J.P. 1975. *Hammondia hammondi* gen. nov. sp. nov., from domestic cats, a new coccidian related to *Toxoplasma* and *Sarcocysts*. *Z. Parasitenkd*, 46:3-12.
- FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P. & MILLER, N.L. 1970. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*, 167:893-896.
- FRENKEL, J.K. & ESCAJADILLO, A. 1987. Cyst rupture as a pathogenic mechanism of toxoplasmic encephalitis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 36: 517-522.
- HOWERTH, E.W.; RICH, G.; DUBEY, J.P. & YOGASUNDRAM, K. 1991. Fatal toxoplasmosis in a red lory (*Eos bornea*). *Avian Dis.*, 35: 642-646.
- JACOBS, L.; MELTON, M.L. & JONES, F.E. 1952. The prevalence of toxoplasmosis in wild pigeons. *J. Parasitol.*, 38: 457-461.
- KARNOVSKY, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy (abstr.). *J. Cell. Biol.*, 27:137.

- KIRKIPATRICK, C.E.; COLVIN, B.A. & DUBEY, J.P. 1990. *Toxoplasma gondii* antibodies in common barn owls (*Tyto alba*) and pigeons (*Columba livia*) in New Jersey. *Vet. Parasitol.*, 36: 177-180.
- LEVINE, N.D. 1973a. *Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man*. Minneapolis, Burgess Pub. Co., 406 p.
- LEVINE, N.D. 1973b. Introduction, history and taxonomy. *In*: HAMMOND, D.M. & LONG, P.L. *The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma and Related Genera*. University Park Press, Baltimore, 482 p.
- LEVINE, N.D. 1977. Taxonomy of *Toxoplasma*. *J. Protozool.*, 24:36-41.
- LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B.M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J. & WALLACE, F.G. 1980. A newly revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.*, 27:37-58.
- LINDSAY, D.S. & DUBEY, J.P. 1989. *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.*, 75:772-779.

- LINDSAY, D.S.; SMITH, P.C., & BLAGBURN, B.L. 1994. Prevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from wild turkeys in Alabama. *J. Helminth. Soc. Wash.*, 61:115-117.
- LUNDE, M.N. & JACOBS, L. 1983. Antigenic differences between endozoites and cystozoites of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.*, 69:806-808.
- MANWELL, R.D. 1941. Avian toxoplasmosis with the invasion of the erythrocytes. *J. Parasitol.*, 27:245-251.
- MASSON, R.W.; HARTLEY, W.J. & DUBEY, J.P. 1991. Lethal toxoplasmosis in a little penguin (*Eudyptula minor*). *J. Parasitol.*, 77:328.
- McCOLM, A.A.; HUTCHON, W.M. & SHIM, J.C. 1981. The prevalence of *Toxoplasma gondii* in meat animals and cats in Central Scotland. *Am. Trop. Med. Parasitol.*, 75:157-164.
- MELLO, U. 1910. Un cas de toxoplasmose du chien observé à Turin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 3:359-363.

- MIGLIANO, L. 1913. *Os toxoplasmas*. Tese, Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro.
- NERY-GUIMARÃES, F. & FRANKEN, A.J. 1971a. Toxoplasmose em primatas não humanos. I- Infecções naturais em “*Macaca mulatta*” e “*Cebus apella*”. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 69:77-87.
- NERY-GUIMARÃES, F. & FRANKEN, A.J. 1971b. Toxoplasmose em primatas não humanos. II- Tentativas de infecções experimentais em *Macaca mulatta*, *Cebus apella* e *Callithrix jacchus*; e pesquisa de anticorpos em várias espécies de platyrrhinus. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 69:97-111.
- NÓBREGA, P.; TRAPP, E. & GIOVANNONI, M. 1955. Toxoplasmose espontânea de galinha. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*, 22:43-49.
- NICHOLS, B.A. & O’CONNOR, G.R. 1981. Penetration of Mouse Peritoneal Macrophages by the Protozoon *Toxoplasma gondii* New Evidence for Active Invasion and Phagocytosis. *Lab. Invest.*, 44:324-335.
- NICOLLE, C. & MANCEAUX, L. 1908. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 147:763-766.

NICOLLE, C. & MANCEAUX, L. 1909. Sur un Protozoaire nouveau du gondi. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 148:369-372.

OVERDULVE, J.P. 1978a. Studies on the life cycle of *Toxoplasma gondii* in germfree, gnotobiotic and conventional cats (I). *Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C*, 81:19-32.

OVERDULVE, J.P. 1978b. Studies on the life cycle of *Toxoplasma gondii* in germfree, gnotobiotic and conventional cats (II). *Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C*, 81:33-59.

PEIXOTO, C.M.S. 1990. **Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) de galinhas naturalmente infectadas.** Tese de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 99 p.

PEIXOTO, C.M.S. & LOPES, C.W.G. 1995. Patogenicidade para camundongos do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de galinhas naturalmente infectadas. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4:37-41.

- PROWAZEK, S. VON. 1909. Parasitische protozoen aus Japan, Gesammelt von Herrn Dr. Mine in Fukuoka. *Archiv. Sch. Trop. - Hyg.* , 14:297-302.
- SABIN, A.B. 1939. Biological and Immunological identity of *Toxoplasma* of animal and human origin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 41:75-80.
- SANGIORGI, G. 1913. Un nuovo protozoo parassita del "*Mus musculus*". *Pathologica*, 5:323-325.
- SCHAEFER, R.L. & ANDERSON, R.B. 1989. *The Student Edition of Minitab*. Addison-Wesley Pub. Co. Inc., 365 p.
- SCHOLTYSECK & PIEKARSKI, G. 1965. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Merozoiten von Eimerien (*Eimeria perforans* und *E. stiedae*) und *Toxoplasma gondii*. Zur systematischen Stellung von *T. gondii*. *Z. Parasitenkd.*, 26:91-115.
- SOUZA, W. de. 1974. Aspectos ultraestruturais do processo de divisão do *Toxoplasma gondii*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 8:45-65.

- SOUZA, W.J.S.S. de. 1986. **Aspectos Soroepidemiológicos da Toxoplasmose em Escolares no Rio de Janeiro**. Tese de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 79 p.
- SPLENDRE, A. 1908. Un nuovo protozoa parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il kala-azar dell'uomo. *Rev. Soc. Sci. São Paulo*, 3:109-112.
- SPLENDRE, A. 1909. Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin. Deuxième note préliminaire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 2:462-465.
- STRANNEGARD, O. 1967. The formation of *Toxoplasma* antibodies in rabbits. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 71:439-449.
- TOS-LUTY, S. 1980a. Experimental toxoplasmosis in cats. II. Invasive capabilities of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Acta. Parasitol. Pol.*, 27:23-36.
- TOS-LUTY, S. 1980b. Experimental toxoplasmosis in cats. I. Pathology and immunology. *Acta. Parasitol. Pol.*, 27:11-22.

UGA, S.; OKADA, S. & MATSUMURA, J. 1980. Proliferation of *Toxoplasma gondii* and its cyst-formation in mouse brain. *Kobe J. Med. Sci.*, 26:253-267.

VICKERS, M.C.; HARTLEY, W.J.; MASON, R.W.; DUBEY, J.P. & SCHOLLAM, L. 1992. Blindness associated with toxoplasmosis in canaries. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 200:1723-1725.

WALLACE, G.D. 1973a. The role of the cat in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 22:313-322.

WALLACE, G.D. 1973b. Intermediate an transport host in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 22:456-464.

7. APÊNDICES

APÊNDICE 1.

AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE CAMUNDONGOS SINGÊNICOS, INOCULADOS COM TAQUIZOÍTAS DO *TOXOPLASMA GONDII* NICOLLE & MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)

SIMONI MACHADO DE MEDEIROS¹

WILSON JACINTO SILVA DE SOUZA²

ABSTRACT: MEDEIROS, S.M. de & W.J.S. de SOUZA. 199_. Survival avaluation of syngenic mice inoculated with taquizoites of *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae). *Rev. Univ. Rural - Sér. Ciênc. da Vida*, __(__):__-__. Mice C57BL/10 and DBA/2 of both sexes were infected with 10^3 and 10^6 *Toxoplasma gondii* taquizoites. This parasite was isolated from congenital human toxoplasmosis, and mantained in swiss mice, using intraperitoneal route since 1974. Male and female mice (C57BL/10 and DBA/2), were inoculated intraperitoneal (IP), intramuscular (IM), and subcutaneous (SC) routes with this coccidian parasite.

¹Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 47 Antiga Rod. Rio-S.Paulo, Seropédica, Itaguaí, RJ, CEP 23851-970; ²Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ - Dept. Protozoologia, Av. Brasil, 4365 - Manguinhos-RJ, CEP 21045-900.

Survival times after infection with 10^6 taquizoites were shorter in IP route in both strains of mice than others two ones. Male DBA/2 survived longer than other groups of mice until 11 days after inoculation principally for SC routes.

KEY-WORDS: Toxoplasmosis - taquizoites - Coccidia - parasite - protozoan.

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 é capaz de infectar mamíferos e aves (FAYER, 1981; FRENKEL, 1985; DUBEY, 1986).

A toxoplasmose pode ser dividida em: adquirida e congênita (PESSOA & MARTINS, 1982; REY, 1991). A chamada toxoplasmose adquirida ocorre por via oral, através da ingestão de carne crua ou mal cozida (carnivorismo) contendo cistos com bradizoítas viáveis e/ou por intermédio de água ou alimentos cruz contaminados com oocistos esporulados no solo, procedentes das fezes de felídeos, especialmente, o gato doméstico (FRENKEL, 1985; DUBEY, 1986).

A toxoplasmose congênita ocorre em uma primo-infecção de fêmeas grávidas, tanto em humanos quanto em suínos, ovinos e caprinos. Por outro lado, fêmeas de camundongos cronicamente infectadas (cistos com bradizoítas) podem transmitir o parasito (taquizoítas), por via transplacentária, em pelo menos cinco gerações subsequentes (BEVERLEY, 1959). Contudo, recentemente, foi verificado que camundongos singênicos (BALB/c) comportam-se como os humanos, suínos, ovinos e caprinos, isto é, caso as fêmeas tenham se infectado com o *T. gondii* antes da gravidez, mesmo que sejam re-infectadas, são consideradas resistentes, e não transmitem o

protozoário a sua prole. Se por outro lado, fêmeas grávidas não imunes são inoculadas, por exemplo, no 12º dia gestacional, ocorre a transmissão vertical do coccídio (ROBERTS & ALEXANDER, 1992).

Também tem-se realizado estudos sobre a toxoplasmose adquirida experimentalmente em camundongos, relativos a amostras do parasito, consideradas algumas delas como avirulentas e, outras, como virulentas, enfocando-se aspectos histopatológicos, principalmente a níveis cerebral e ocular dos murinos (DUTTON *et al.*, 1986a; DUTTON *et al.*, 1986b).

No presente trabalho, foram feitas inoculações de 10^3 e 10^6 taquizoítas do *T. gondii* - amostra considerada como virulenta, no sentido de avaliar-se a sobrevivência de duas linhagens de camundongos singênicos (C57 BL/10 e DBA/2), correlacionadas entre si, bem como avaliar-se a dose infectante e vias de inoculação do parasito.

MATERIAL E MÉTODOS

Grupos de camundongos inbred (C57BL/10 e DBA/2), de ambos os sexos, pesando 20 ± 2 g, foram inoculados com 10^3 e 10^6 taquizoítas do *T. gondii*. A amostra do parasito foi isolada em 1974, a partir de um caso humano congênito e mantida por inoculações intraperitoneais em camundongos albinos fêmeas de 20 ± 2 g de peso corporal. As vias de inoculação do parasita nos camundongos singênicos foram as intraperitoneais (IP), intramuscular (IM) e subcutânea (SC). Os murinos foram mantidos à temperatura ambiente, em grupo de 6 animais por gaiola-plástica, contendo vermiculita (isolante termo-acústico), ração própria (CRI-Nuvilar) e água potável em bebedouros.

O preparo dos taquizoítas do *T. gondii* foi feito de modo asséptico, a fim de obter-se 10^3 e 10^6 parasitos em 0,1 ml para inóculo por cada uma das vias utilizadas (IP, IM ou SC), tendo sido adicionado antibióticos (100 UI de penicilina G potássica e 100 µg de estreptomicina).

Tanto os machos e fêmeas de C57BL/10, quanto os de DBA/2, foram inoculados com 10^3 e 10^6 taquizoítas do *T. gondii* ao mesmo tempo, tendo sido feitos três experimentos subsequentes.

RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentados os resultados obtidos de acordo com: as vias de inoculação e doses infectantes dos taquizoítas do *T. gondii*, assim como os grupos e sexos dos camundongos singênicos (C57BL/10 e DBA/2), utilizados no presente trabalho. Nota-se que as fêmeas foram mais suscetíveis à infecção pelo protozoário do que os machos e que a via intraperitoneal matou os roedores mais precocemente ao se comparar esta via com os períodos de sobrevivência em dias dos animais inoculados pelas vias intramuscular e subcutânea.

DISCUSSÃO

Na toxoplasmose murina crônica, fêmeas grávidas podem transmitir congenitamente a infecção aos seus conceitos em mais de uma gestação. Neste caso os recém-natos apresentam-se com comprometimento do sistema nervoso central e globo ocular (BEVERLEY, 1959; DUTTON *et al.*, 1986a; DUTTON *et al.*, 1986b). Em outros

animais, os casos de toxoplasmose congênita, assim como os de toxoplasmose adquirida, muitas vezes se apresentam com necessidade de estudos mais amplos, para um diagnóstico correto.

PETTERSEN (1977), DUTTON *et al.* (1986a, 1986b) e HAY *et al.* (1986), ao estudar o comportamento de amostras do *T. gondii* em infecção experimental de murinos e/ou coelhos, observaram que aspectos importantes na geração do parasita, tais como amostras avirulentas ou virulentas, podem estar implicados no desenvolvimento da patogenia ao hospedeiro. Os animais utilizados, são singênicos (C57BL/10 e DBA/2), sendo que seus haplótipos (TRICHMAN *et al.*, 1978) são referidos como H-2^b e H-2^d, respectivamente. Por isto, também usamos animais do sexo masculino e feminino, inoculados simultaneamente, a fim de verificar se os hormônios sexuais poderiam estar envolvidos na suscetibilidade ou resistência ao parasita. Neste último aspecto, os camundongos DBA/2 machos tiveram sobrevivência maior (11 dias) do que os C57BL/10, quando inoculados por via subcutânea com 10³ taquizoítas do *T. gondii*, amostra considerada como virulenta. Da mesma maneira, os machos de ambas linhagens foram mais resistentes do que as fêmeas.

Em relação à via de inoculação, observamos que a intraperitoneal matou os roedores mais rapidamente, seguida da via intramuscular e, finalmente, a subcutânea, quando inoculados com 10⁶ taquizoítas do protozoário.

LITERATURA CITADA

- BEVERLEY, J.K.A. 1959. Congenital transmission of toxoplasmosis through successive generations of mice. *Nature*, 183:1348-1349.
- DUBEY, J.P. 1986. Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Associations*, 189:166-170.
- DUTTON, G.N., J. HAIR, D.M. HAIR & J. RALSTON. 1986a. Clinical pathological features of a congenital murine ocular toxoplasmosis Grafe's. *Archive of Clinical Experimental Ophthalmology*, 224:256-264.
- DUTTON, G.N., P.G. McMENNANIN, J. HAY & S. CAMERON. 1986b. The ultrastructural pathology of congenital murine toxoplasmosis retinochroiditis. Part II: The morphology of the inflammatory changes. *Experimental Eyes Research*, 43:545-560.
- FAYER, R. 1981. Toxoplasmosis update and public health implication. *Canadian Veterinary Journal*, 22:344-352.
- FRENKEL, J.K. 1985. Immunity in toxoplasmosis. *Bulletin Food Agriculture Organisation*, 19:354-367.

- HAY, J., D.I. GRAHAM, G.N. DUTTON & S. LOGAN. 1986. The immunocytochemical demonstration of *Toxoplasma* antigen in the brain of congenitally infected mice. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 72:609-615.
- PESSÔA, S.B. & A.V. MARTINS. 1982. Pessôa, Parasitologia Médica. Ed. Guanabara Koogan, 11^a ed., 872 pp.
- PETTERSEN, E.K. 1977. Experimental toxoplasmosis in mice and rabbits. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*. Section B., 85:95-102.
- REY, L. 1991. Parasitologia, Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Ed. Guanabara Koogan, 2^a ed. 731 pp.
- ROBERTS, C.W. & J. ALEXANDER. 1992. Studies on a murine model of congenital toxoplasmosis: vertical disease transmission only occurs in Balb/c mice infected for the first time during pregnancy. *Parasitology*, 104:19-23.
- TRICHMANN, T., H. TANOWITZ, M. WITTNER & B. BLOOM. 1978. *Trypanosoma cruzi*: role of the immune response in the natural resistance of inbred strains of mice. *Experimental Parasitology*, 45:160-168.

TABELA 1. Sobrevida em dias de camundongos singênicos inoculados com taquizoítas *Toxoplasma gondii*

Via de inoculação ^b	C57 BL/10 ^a				DBA/2			
	10 ^{3c}		10 ⁶		10 ³		10 ⁶	
	Fem. ^d	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.
Intraperitoneal	7,0	8,0	5,0	5,5	8,0	9,5	6,0	7,0
Intramuscular	7,5	9,5	6,0	7,0	9,0	10,5	7,0	7,5
Subcutâneo	8,0	10,0	7,0	8,0	9,5	11,0	8,0	8,5

^a Linhagens utilizadas.

^b Número de 6 animais por tratamento.

^c Dose utilizada.

^d Feminino (Fem.) e masculino (Masc.).

APÊNDICE 2.

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

**DISTRIBUIÇÃO DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE & MANCEAUX, 1909
(APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE) EM ÓRGÃOS DE CAMUNDONGOS
ALBINOS INOCULADOS COM UMA AMOSTRA ACISTOGÊNICA: DADOS
PRELIMINARES**

**(Distribution of acystogenic *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909
(Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in organs of albino mice: preliminary data)**

ALBUQUERQUE, George Rego*, MUNHOZ, Alexandre Dias*,
de MEDEIROS, Simoni Machado**, FLAUSINO, Walter***
e LOPES, Carlos Wilson Gomes****

* Bolsista de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq/UFRRJ.

** Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária/
UFRRJ.

*** Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária - UFRRJ.

**** Professor Titular. Departamento de Parasitologia Animal/IB. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, 23.851-970, Seropédica, RJ.

Resumo

Vinte camundongos albinos fêmeas foram inoculados por via sub-cutânea com 10^3 taquizoítas de *Toxoplasma gondii*. 40 outros animais foram usados como controles, sendo 20 utilizados como controle alimentar e 20 como controle negativo. Taquizoítas foram observados em um dos animais inoculados aos 5º dias após infecção (DAI) caracterizando-se com formas finas e pequenas. Do 11º ao 13º DAI, taquizoítas finos e largos foram observados em esfregaços do fígado, baço, pulmão, rins e coração. Os animais controles foram assintomáticos e negativos para *T. gondii*.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, taquizoítas, camundongos.

O *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) é um parasita heteroxeno. Seu ciclo de vida completo só pode ser realizado no hospedeiro definitivo, ou seja, um felídeo. Contudo, várias espécies de animais entre mamífero e aves podem ser hospedeiros intermediários (LEVINE, 1977).

A demonstração do parasito em tecidos por exames histopatológicos é muito difícil. Existe atualmente duas técnicas que podem ser usadas; a imunofluorescência de tecido e a peroxidase anti-peroxidase, para demonstração de antígenos ou protozoário nas lesões teciduais (KANAMURA-KAWADA *et al.*, 1986). Por outro lado pode ser feita a tentativa de isolamento do coccídio por inoculações subcutâneas de órgãos e tecidos em camundongos (PEIXOTO, 1990).

Dos vinte camundongos albinos fêmeas inoculados com 10^3 de taquizoítas por via subcutânea e após necropsia observou-se que não houve infecção desses animais nos dias 1, 3 e 7 após inoculação (DAI). Formas finas e pequenas do parasita foram encontradas em um dos camundongos no 5º DAI. Nos 11º, 12º e 13º DAI foram necropsiados 2, 1 e 3

animais respectivamente, que apresentavam-se apáticos, com pêlos iriçados e dificuldade respiratória e foram encontradas formas finas e largas nos órgãos: fígado, baço, pulmões, rins e coração (Tabela 1). Verificou-se também que embora o peso vivo desses animais não tenha se alterado, em relação à pesagem das carcaças houve redução, enquanto que as vísceras apresentavam-se mais pesadas quando comparadas aos grupos controles. Não se observou formas do parasita em esfregaços do cérebro dos animais infectados. Quanto aos grupos controles negativo e alimentar nenhuma das lâminas examinadas foi positiva.

Summary

Distribution of acystogenic *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in organs of albino mice: preliminary data

Twenty female albino mice were each inoculated subcutaneously with 10^3 *Toxoplasma gondii* tachizoites. Forty mice used as controls, been twenty were used as per fed animals and twenty were negative controls. Tachizoites were observed in one of the inoculated animals at 5 days after infection (DAI) and they were characterized by slender and small forms. At 11 to 13 DAI, slender and wide tachizoites were observed in tissues smears of the liver, spleen, lungs, kidneys, and heart. The control animals remained asymptomatic and negative for *T. gondii*.

Key words: *Toxoplasma gondii*, tachizoites, mice.

Referências Bibliográficas

- KANAMURA-KAWADA, H.Y., MADEIRA, L.H.A., CAMARGO, M.E., ALVES, V.A.F., LOPES, M.B.S., ROSEMBERG, S. Identificação do *Toxoplasma gondii* pela técnica imunohistoquímica da peroxidase anti-peroxidase. Estudo comparativo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 19, p. 114, 1986.
- LEVINE, N.D. Taxonomy of *Toxoplasma*. *J. Protozool.*, v. 24, p. 36-41, 1977.
- PEIXOTO, C.M.S. Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) de galinhas naturalmente infectadas. Rio de Janeiro, 1990. 99 p. Tese de Mestrado em Parasitologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Tabela 1 - Percentagem de taquizoítas de *Toxoplasma gondii* observados em órgãos dos camundongos.

Órgãos	* Formas (%)	
	Finas	Largas
Fígado	26	74
Baço	38	62
Pulmões	47	53
Rins	52	48
Coração	50	50

* Mensurados 100 taquizoítas por órgão parasitado.

APÊNDICE 3.

**PLEOMORFISMO DE UMA AMOSTRA ACISTOGÊNICA DE *Toxoplasma gondii*
NICOLLE & MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)
ISOLADA DE UMA GALINHA NATURALMENTE INFECTADA¹**

PLEOMORPHISM OF AN ACYSTOGENIC *Toxoplasma gondii* NICOLLE &
MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE) ISOLATED FROM A
CHICKEN INFECTEDED NATURALLY

Simoni Machado de Medeiros²

Carlos Wilson Gomes Lopes³

RESUMO - Amostras de cérebro e coração de galinhas, foram inoculadas intraperitonealmente em camundongos albinos fêmeas. Das 11 galinhas examinadas, uma foi positiva para *Toxoplasma gondii*. Taquizoítas foram observados no fígado, baço, coração, pulmões e rins independente da origem do inóculo, cérebro ou coração. Estes zoítas foram caracterizados como pleomórficos, onde as formas extra-largas mediram $7,06 \pm 0,06$ por $3,38 \pm 0,38 \mu\text{m}$ e foram encontrados com maior frequência no fígado e rins das amostras de cérebro do que nas do coração.

¹ Trabalho realizado sob auspício do CNPq.

² Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ.

³ Departamento de Parasitologia Animal, IB - UFRRJ. Km 47 da antiga Rio-São Paulo, 23 851-970 Sero-
Seropédica, RJ, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE - Pleomorfismo, Taquizoítas, *Toxoplasma gondii*, Camundongos albinos, Galinhas.

SUMMARY - Samples of brain and heart of chickens were inoculated intraperitoneally into females albino mice. Of 11 chickens examined, one was positive for *Toxoplasma gondii*. Tachizoites were observed in smears of liver, spleen, heart, lungs and kidneys, independent of the origin of the isolates as brain or heart. These zoites were characterized as pleomorphic, where the extra-large forms measured 7.06 ± 0.06 by $3.38 \pm 0.38 \mu\text{m}$, and they were found with more frequency in the liver and kidneys from brain isolate than in heart one.

KEY-WORDS - Pleomorphism, Tachizoites, *Toxoplasma gondii*, Albino mice, Chickens.

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii (Nicolle & Manceaux, 1909) é um parasito heteroxeno. Seu ciclo biológico completo só pode ser observado quando o hospedeiro for um felídeo (LEVINE, 1977).

Três fases evolutivas do parasita podem estar envolvidas na transmissão: taquizoítas e bradizoítas teciduais e esporozoítas de oocistos esporulados (DUBEY, 1986). Podendo ainda, ser transmitido por via transplacentária, por ingestão de carne crua ou mal cozida, por água ou comida contaminadas com oocistos (DUBEY, 1976).

O isolamento do *T. gondii* em carne (JACOBS *et al.* 1960a,b), geralmente traz subsídios importantes, em termos epidemiológicos, porque as formas encistadas são bem mais resistentes do que as chamadas formas proliferativas.

O objetivo deste trabalho foi isolar o *T. gondii* de galinha naturalmente infectada e caracterizar uma amostra acistogênica quanto ao pleomorfismo das formas proliferativas deste protozoário.

MATERIAL E MÉTODOS

Onze galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas em condições naturais foram obtidas no Município de Seropédica, localizado na Microrregião Fluminense do Grande Rio (FIBGE, 1985).

Dos fragmentos de cérebro e coração destas aves, foram isoladamente triturados em gral e pistilo estéreis, homogeneizados em 10 ml de solução salina a 0,9% e filtrados através de gaze estéril de quatro camadas. Aos mesmos foi adicionado 100 UI de penicilina G potássica e 100 µg de estreptomicina. A suspensão de cada fragmento foi inoculada, intraperitonealmente, em camundongos albinos fêmeas (*Mus musculus*). Para cada suspensão dos órgãos, foram utilizados cinco camundongos, sendo que cada animal recebeu 1 ml por inóculo. Para cada grupo de 10 camundongos inoculados, correspondente a uma galinha, cinco outros foram separados para controle. Cada animal foi observado diariamente, e em caso de morte, necropsia e pesquisa do protozoário foram realizadas. Para a pesquisa de cistos de *T. gondii* foram feitos exames a fresco de fragmentos de cérebro comprimidos entre lâmina e lamínula e esfregaços fixados com

álcool metílico por três minutos e corados pelo Giemsa por 30 minutos. Da mesma forma para observação de taquizoítas em impressões de fígado, baço, pulmões, coração e rins.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível isolar o *T. gondii* de uma das galinhas de um total de 11 galinhas examinadas. Todos os camundongos inoculados com o material do cérebro e coração desta ave foram positivos. Os sinais clínicos observados até o 8º dia após inoculação (DPI) foram caracterizados por perda de peso, inapetência, pelos eriçados, abaulamento abdominal e tique nervoso. PEIXOTO (1990) observou os mesmos sinais clínicos quando trabalhou com uma amostra cistogênica isolada de galinhas na mesma região; porém, não observou a presença de tique nervoso. Da mesma forma, sinais clínicos semelhantes à estes são descritos em camundongos infectados com *Neospora caninum* (LINDSAY & DUBEY, 1989).

Após a necropsia dos camundongos inoculados com o material do cérebro e com o do coração das aves, estes foram examinados para evidênciação do parasita. Com exceção do cérebro todas as impressões de órgãos foram positivas para taquizoítas de *T. gondii*. Os taquizoítas observados nas impressões de órgãos analisados foram caracterizados como pleomórficos, aparecendo com as seguintes formas: finas, largas e extra largas (Figura 1). Formas semelhantes foram encontradas por OVERDULVE (1978a,b) em células entero-epitelial de felinos. Estas características modificaram-se à razão da origem da amostra; cérebro ou coração e localização, esta última de acordo com o órgão parasitado. Com a amostra obtida do cérebro, observou-se as seguintes formas, com suas respectivas medidas e localização (Tabela 1). Da mesma maneira foi observada

para amostra proveniente do coração (Tabela 2). Apesar do pequeno número de taquizoítas extra-largos, estes foram observados em maior número no fígado e rins da amostra do cérebro medindo $3,38 \pm 0,38$ por $7,06 \pm 0,6 \mu\text{m}$. Não foi encontrado à microscopia óptica, cistos nos esfregaços por esmagamento de cérebro e nem naqueles corados pelo Giemsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DUBEY, J.P. 1976. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other Coccidia of cats and dogs. **J. Amer. Vet. Med. Assoc.**, 169: 1061-1078.
- DUBEY, J.P.. 1986. Toxoplasmosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 189: 166-170.
- FIBGE. 1985. Censo Agropecuário. **20**. IBGE. Rio de Janeiro. 370p.
- JACOBS, L.; REMINGTON, J.S. & MELTON, M.L. 1960a. A survey of meat samples from swine, cattle, and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. **J. Parasitol.**, 46: 23-28.
- JACOBS, L.; REMINGTON, J. S. & MELTON, M. L. 1960b. The resistance of the encysted form *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol.**, 46: 11-21
- LEVINE, N.D. 1977. Taxonomy of *Toxoplasma*. **J. Protozool.** , 24: 36-41.
- LINDSAY, D.S. & DUBEY, J.P. 1989. *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. **J. Parasitol.**, 75: 772-779.
- PEIXOTO, C.M.S. 1990. Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) de galinhas naturalmente infectadas Rio de Janeiro. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 99p. Tese de Mestrado.

- OVERDULVE, J.P. 1978a. Studies on the life cycle of *Toxoplasma gondii* in germfree, gnotobiotic and conventional cats (I). **Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C.,** **81:** 19-32.
- OVERDULVE, J.P. 1978b. Studies on the life cycle of *Toxoplasma gondii* in germfree, gnotobiotic and conventional cats (II). **Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C.,** **81:**33-59.

Fig. 1: *Toxoplasma gondii*. Formas morfológicas observadas em camundongos. (A) finas, (B) largas e (C) extra-largas. Giemsa (— = 10 μm).

Tabela 1. Valores observados para taquizoítas de *Toxoplasma gondii* isolado de cérebro de galinha naturalmente infectada por via intraperitoneal em camundongos albinos

	Taquizoítas (μm) ^a			
	Finos		Largos	
	Dm ^b	dm ^c	DM	dm
Fígado	5,60±0,66	1,65±0,31	6,00±0,65	2,43±0,27
Baço	5,59±0,58	1,71±0,25	5,86±0,58	2,42±0,25
Pulmões	5,68±0,60	1,61±0,26	5,75±0,66	2,45±0,24
Rins	5,70±0,59	1,62±0,27	5,56±0,48	2,48±0,29
Coração	5,54±0,70	1,70±0,25	5,88±0,61	2,40±0,27

^a Valores de 50 taquizoítas por órgão parasitado.

^b Diâmetro maior.

^c Diâmetro menor.

Tabela 2. Valores observados para taquizoítas de *Toxoplasma gondii* isolados de coração de galinha naturalmente infectada por via intraperitoneal em camundongos albinos.

	Taquizoítas (μm) ^a			
	Finos		Largos	
	Dm ^b	dm ^c	DM	dm
Fígado	5,64 \pm 0,70	1,74 \pm 0,23	5,91 \pm 0,71	2,35 \pm 0,24
Baço	5,43 \pm 0,57	1,67 \pm 0,26	5,58 \pm 0,61	2,46 \pm 0,28
Pulmões	5,63 \pm 0,65	1,67 \pm 0,27	5,80 \pm 0,57	2,46 \pm 0,26
Rins	5,45 \pm 0,53	1,62 \pm 0,26	5,63 \pm 0,69	2,43 \pm 0,29
Coração	5,60 \pm 0,66	1,70 \pm 0,25	5,64 \pm 0,54	2,42 \pm 0,26

^a Valores de 50 taquizoítas por órgão parasitado.

^b Diâmetro maior.

^c Diâmetro menor