

**TOXOPLASMOSE EM CODORNAS (*Coturnix coturnix japonica*): INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM TAQUIZOÍTAS
DE UMA CEPA ACISTOGÊNICA FRENTE A UMA
CISTOGÊNICA DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE &
MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)**

GEORGE RÊGO ALBUQUERQUE

2000

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -

PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

TOXOPLASMOSE EM CODORNAS (*Coturnix coturnix japonica*): INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM TAQUIZOÍTAS DE UMA CEPA ACISTOGÊNICA FRENTE A UMA CISTOGÊNICA DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE & MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)

GEORGE RÊGO ALBUQUERQUE

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.

SEROPÉDICA, RIO DE JANEIRO

FEVEREIRO, 2000

T
6280 5089696
A 3451

TÍTULO DA TESE:

TOXOPLASMOSE EM CODORNAS (*Coturnix coturnix japonica*): INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM TAQUIZOÍTAS DE UMA CEPA ACISTOGÊNICA FRENTE A UMA CISTOGÊNICA DO *Toxoplasma gondii* NICOLLE & MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)

AUTOR:

GEORGE RÊGO ALBUQUERQUE

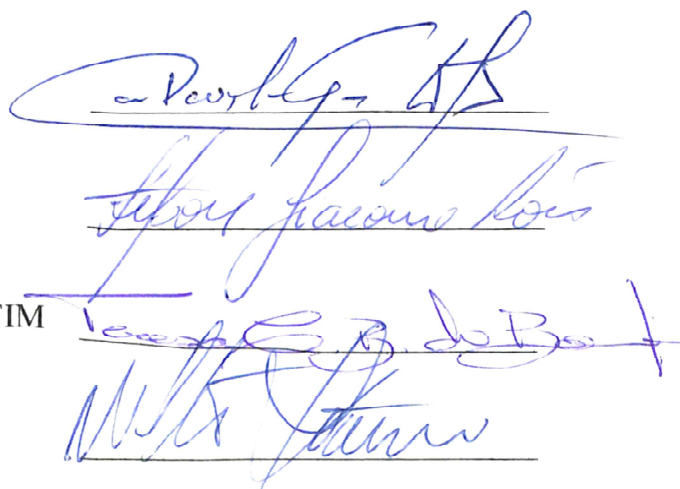
APROVADA EM: ____/____/____

Dr. CARLOS WILSON GOMES LOPES

Dr. ZELSON GIÁCOMO LOSS

Dra. TERESA CRISTINA BERGAMO DO BOMFIM

Dr. WALTER FLAUSINO



*Aos meus pais Humberto e
Alzenete e irmã, Daniela, pelo
incentivo e apoio.*

*À minha namorada Renata,
pela compreensão.*

*Aos meus avós Almira, José,
Amaro e Geni pelo exemplo de vida.*

*“A Ciência não resolve um
problema sem criar ao menos dez
outros”.*

*George Bernard Shaw
1836-1950
Dramaturgo Irlandês.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu mestre, Prof. CARLOS WILSON GOMES LOPES, pela amizade e a confiança em mim depositada.

Aos amigos do laboratório de Protozoologia ALEXANDRE DIAS MUNHOZ, SIMONI MACHADO DE MEDEIROS, FRANCISCO CARLOS RODRIGUES DE OLIVEIRA, ALEXANDRE RÊGO SOUZA PINTO, WALTER FLAUSINO, PATRÍCIA SEIBEL MELO, MARCEL TEIXEIRA e FABIANA VALADÃO MASSAD, por tudo que vivemos juntos.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária, em especial, ao prof. ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO.

À todos os funcionários do Departamento de Parasitologia Animal, em especial à WILSON MENDES DE ALMEIDA, ARCHANJO GONSALVES DA SILVA, ELCY RODRIGUES DE MORAES CARVALHO, GILMAR MONTEIRO, WALTER LEIRA TEIXEIRA FILHO E JOSÉ MAURÍCIO MATTOS DE SOUZA pela ajuda sempre que necessária.

BIOGRAFIA

GEORGE RÊGO ALBUQUERQUE, filho de Humberto José Tavares Rabelo de Albuquerque e Alzenete Rêgo Albuquerque, nasceu a 16 de janeiro de 1974, em Teresina, PI.

Iniciou o estudo primário no Colégio das Damas da Instrução Cristã, em Recife, PE, cursou o ginásio e o segundo grau no Colégio Sacre-Coeur de Marie, no Rio de Janeiro, RJ, concluindo em 1991.

Em 1992, ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no curso de Medicina Veterinária, colando grau em 1997, no período de 1994 a 1997 foi estagiário e bolsista de iniciação científica no Departamento de Parasitologia Animal sob orientação do professor Carlos Wilson Gomes Lopes.

Em 1998, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária, na UFRRJ, a nível de Mestrado.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Classificação	3
2.2. Aspectos biológicos	4
2.2.1. Ciclo enteroepitelial	5
2.2.2. Ciclo extra-intestinal	7
2.3. Toxoplasmose	7
2.4. Fatores que influenciam a severidade da doença	9
2.5. Toxoplasmose em aves	10
2.6. Coccídios em codornas da espécie <i>Cuturnix cuturnix</i>	15
2.7. Origem das codornas	17

	Pág.
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Procedência dos animais	18
3.1.1. Codornas	18
3.1.2. Camundongos	18
3.2. Local do experimento	19
3.3. Obtenção e manutenção dos taquizoítas de <i>Toxoplasma gondii</i>	19
3.4. Preparação do inóculo	19
3.5. Inoculação das codornas	20
3.6. Acompanhamento das aves durante a fase experimental	20
3.7. Necropsias das aves	21
3.7.1. Cepa SERO-47 e controle	21
3.7.2. Cepa 'P'	21
3.8. Isolamento do <i>T. gondii</i> em camundongos	22
3.9. Sorologia dos camundongos	23
3.10. Procedimentos laboratoriais	23
3.10.1. Preparo e coloração dos esfregaços	23
3.10.2. Exame dos esfregaços e mensuração das formas endógenas	24
3.10.3. Exame histopatológico	24
3.11. Fotomicrografias	24
3.12. Análise estatística	25

	Pág.
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1. Alterações macroscópicas nas codornas	26
4.2. Isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i>	27
4.2.1. De ovos de codorna	27
4.2.2. De tecidos de codornas	31
4.3. Sorologia dos camundongos	34
4.4. Exame histopatológico das codornas	34
4.5. Esfregaços dos órgãos	42
4.6. Mensurações dos taquizoítas	51
5. CONCLUSÕES	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
7. APÊNDICES	69

ÍNDICE DAS TABELAS

	Pág.
TABELA 1. Persistência da infecção do <i>Toxoplasma gondii</i> em diferentes tecidos de codornas no 70º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.	32
TABELA 2. Aspectos comparativos da presença de zoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> em tecidos de codornas, no 7º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.....	46
TABELA 3. Aspectos comparativos da presença de zoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> em tecidos de codornas, no 14º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.....	47
TABELA 4. Aspectos comparativos da presença de zoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> em tecidos de codornas, no 21º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.....	48

TABELA 5. Aspectos comparativos da presença de cistos de <i>Toxoplasma gondii</i> em tecidos de codornas, no 70º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.....	49
TABELA 6. Variação entre taquizoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> de duas cepas distintas em codornas infectadas experimentalmente.....	52

ÍNDICE DAS FIGURAS

Pág.

- FIGURA 1.** Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos fígados de codornas inoculados com 10^6 (-----), 10^4 (-----) taquizoítas/animal da cepa SERO-47 e grupo controle (-----)..... 28
- FIGURA 2.** Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos baços de codornas inoculados com 10^6 (-----), 10^4 (-----) taquizoítas/animal da cepa SERO-47 e grupo controle (-----)..... 28
- FIGURA 3.** Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos pulmões de codornas inoculados com 10^6 (-----), 10^4 (-----) taquizoítas/ animal da cepa SERO-47 e grupo controle (-----)..... 29
- FIGURA 4.** Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos fígados de codornas inoculadas com 10^5 (-----) taquizoítas/ animal da cepa 'P' e grupo controle (-----)..... 29

- FIGURA 5.** Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos baços de codornas inoculadas com 10^5 (-----) taquizoítas/animal da cepa 'P' e grupo controle (-----)..... 30
- FIGURA 6.** Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos pulmões de codornas inoculadas com 10^5 (-----) taquizoítas/animal da cepa 'P' e grupo controle (-----)..... 30
- FIGURA 7.** Fígado de codornas infectadas com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' (a) e 10^4 da cepa SERO-47 (b) do *Toxoplasma gondii*. Microgranulomas (→) localizados no parênquima hepático próximo ao espaço porta. H.E., 200x..... 35
- FIGURA 8.** Fígado de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Degeneração vacuolar generalizada dos hepatócitos (→) H.E., 1000x..... 37
- FIGURA 9.** Musculatura peitoral de uma codorna inoculada com 10^6 taquizoítas da cepa SERO-47 do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado inflamatório localizado (→). H.E., 200x..... 38

- FIGURA 10.** Rim de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado inflamatório no interstício do órgão composto por células mononucleares (→). H.E., 200x..... 39
- FIGURA 11.** Cérebro de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado de células mononucleares ao redor dos vasos sanguíneos (→). H.E., 200x..... 40
- FIGURA 12.** Pulmão de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado generalizado de células mononucleares caracterizando pneumonia intersticial (→). H.E., 200x..... 41
- FIGURA 13.** Infecção de uma codorna com 10^6 taquizoítas da cepa SERO-47. Taquizoíta (→) em um esfregaço de fígado. Giemsa, 1000x..... 44
- FIGURA 14.** Infecção de uma codorna com 10^5 taquizoítas da cepa 'P'. Taquizoíta (→) em um esfregaço de pulmão. Giemsa, 1000x..... 45
- FIGURA 15.** Codorna infectada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P'. Cisto (→) bem diferenciado em esfregaço de cérebro. Giemsa, 1000x..... 50

ÍNDICE DOS APÊNDICES

Pág.

APÊNDICE 1. Infecção experimental em codornas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) com endozoítas de <i>Toxoplasma gondii</i> Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae).....	69
APÊNDICE 2. Morfologia e distribuição dos endozoítas em codornas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) do <i>Toxoplasma gondii</i> Nicolle & Manceuax, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae).....	76

RESUMO

Cento e dez codornas (*Coturnix coturnix japonica*) foram divididas em quatro grupos. Dois grupos, com 30 animais cada, foram inoculados com 10^6 e 10^4 taquizoítas/animal respectivamente da cepa SERO-47 do *T. gondii*. O terceiro grupo com 20 animais, foi também inoculado subcutaneamente com 10^5 taquizoítas/animal da cepa 'P' do mesmo parasito. O último grupo de 30 animais foi inoculado com solução salina 0,9% e considerado como controle. Cinco codornas por grupo foram sacrificados nos dias 1, 3, 7, 14, 21 e 70 após infecção (DAI), com exceção do grupo infectado com a cepa P onde os sacrifícios foram aos 3, 7, 14 e 70 DAI. À necropsia, foram observados hepatomegalia, esplenomegalia e hipertrofia pulmonar no 7º DAI em todos os animais infectados independente da cepa utilizada. Microscopicamente foram observadas reação inflamatória de natureza focal ou difusa, caracterizadas, por uma infiltração de células mononucleares, especialmente linfócitos e macrófagos no fígado, rins, pulmões, coração e músculo peitoral nos três grupos de animais infectados. Em um dos animais infectados com a cepa 'P' foi observado reação inflamatória digna de nota no cérebro. Todos os animais do grupo controle permaneceram sem alterações. Taquizoítas foram

observados nos esfregaços de órgãos corados pelo Giemsa a partir do 7º DAI e com maior frequência no fígado, pulmões e baço. No 70º DAI não se observou nenhuma forma do parasito nos animais infectados com a cepa SERO-47, enquanto que nos animais infectados com a cepa 'P', foi possível observar cistos no cérebro e coração sem reação inflamatória. A musculatura peitoral foi positiva na bioprova no 3º e 7º DAI para os animais infectados com a cepa SERO-47 e no 3º, 7º e 14º DAI para os da cepa 'P'. No 70º DAI nenhum órgão das codornas infectadas com a cepa SERO-47 foi positivo em camundongos albinos, enquanto quatro das cinco codornas infectados com a cepa 'P' foram positivos.

SUMMARY

One hundred and ten japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) were divided in four groups. Two groups of 30 animals each were inoculated with 10^6 and 10^4 tachyzoites/animal of SERO-47 strain of the *Toxoplasma gondii* respectively. The third group consisted of 20 animals was also inoculated subcutaneously with 10^5 tachyzoites/animal of 'P' strain of the same parasite. The last group of 30 animals each was also inoculated with saline at 0.9% and it was considered as controls. Five japanese quails for each group were sacrificed at 1th, 3th, 7th, 14th, 21th and 70th days after infection (DAI) except for the group infected with 'P' strain where the sacrifices were at 3th, 7th, 14th and 70th DAI. In the 7th DAI hepatomegaly, splenomegaly and lungs hypertrophy were observed in all infected animals, independent of the strain. Microscopically, inflammatory cells reactions was observed locally or diffuse characterized by mononuclear cells infiltration consisted by lymphocytes and macrophages in liver, lungs, kidneys, heart and breast muscles in the three groups of infected animals. In one of the quails inoculated with 'P' strain inflammatory reaction was present in the brain. All controls remained healthy. Tachyzoites were observed in

tissues smears staining with Giemsa after 7th DAI and with a major frequency in liver, lungs and spleen. In 70th DAI parasites of SERO-47 strain were not observed in any animals while quails infected with 'P' strain had cysts without inflammatory reaction in the brain and heart except in one of them. Muscle from breast of quails inoculated with SERO-47, when they were bioassayed for *T. gondii* in albino mice, it was isolated at 3th and 7th DAI, while the breast muscles in quails inoculated with 'P' strain of the same parasite were positive at 3th, 7th, 14th DAI. At 70th DAI, no one of organs of quails inoculated with SERO-47 when bioassayed were positive, while four quails of five animals inoculated with 'P' strain were positive.

1. INTRODUÇÃO

Nos animais domésticos, principalmente suínos, caprinos e ovinos, a toxoplasmose é considerada responsável por prejuízos econômicos. Recentemente, não só, vem se observando o efeito da infecção do *Toxoplasma gondii* sobre aves de produção, bem como seu isolamento freqüente em galinhas de criação rústica, sinalizando com isso, a possibilidade de serem reservatórios assintomáticos em áreas peridomiciliares. Quanto às aves ornamentais, em sua maioria, o *T. gondii* tem sido observado em relatos de casos naturais ou sobre aspectos gerais de suas lesões.

A importância epidemiológica das aves que vivem próximo as habitações humanas têm sido motivo de avaliação, por terem hábitos de se alimentarem de grãos e insetos presentes em locais onde, muitas vezes, gatos enterram sua fezes positivas para oocistos de *T. gondii*. Sendo assim, aves de criação rústicas podem ser apontadas como fonte de infecção deste coccídio, apesar de se manterem clinicamente saudáveis.

Entre as espécies aviárias, principalmente aquelas usadas como animais de produção, a codorna muita das vezes vêm sendo utilizada em pequenas criações de fundo de quintal. Sua anatomia e fisiologia semelhante as das galinhas domésticas

associado ao seu pequeno tamanho, as tornam ideais para serem utilizadas no campo da pesquisa em aves.

O uso de codornas em pesquisas biomédicas aumentou rapidamente nas últimas duas décadas e já foram empregadas em estudos envolvendo embriologia, toxicologia, fisiologia, nutrição, endocrinologia, genética, entre outros. São fáceis de manejar em condições de laboratório comparando-se com as galinhas e apresentam uma produção de ovos maior em um intervalo entre gerações mais curto.

Pouco estudo tem dado a importância da disseminação deste parasito em aves no Brasil, mesmo naquelas utilizadas na alimentação humana e animal.

Este trabalho teve como objetivos, observar a evolução do parasitismo por *T. gondii* em codornas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas a infecção experimental, caracterizar e comparar às formas parasitárias encontradas nas duas cepas utilizadas e avaliar as alterações macroscópicas e microscópicas provocadas pelo parasitismo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Classificação

Com base no complexo apical observado nos protozoários que possuem formas infectantes, zoítas , descreveu-se o filo Apicomplexa . Segundo LEVINE *et al.* (1980), COX (1981), SMITH (1981) e CORLISS (1994) este parasito foi classificado como parte do:

Império Eucariota Corliss, 1994

Reino Protozoa Goldfuss, 1818

Filo Apicomplexa Levine, 1970

Classe Coccidia Leuckart, 1879

Ordem Eucoccidiida Léger & Dubosq, 1910

Subordem Eimeriina Léger, 1911

Família Sarcocystidae Poche, 1913

Subfamília Toxoplasmatinae Biocca, 1959

Gênero *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909

Ainda nessa subfamília também fazem parte três outros gêneros: *Besnoitia* Henry, 1913, *Hammondia* Frenkel & Dubey, 1975 e *Neospora* Dubey *et al.*, 1988. Nestes gêneros, cuidados especiais devem ser tomados para não se confundir com formas de *T. gondii*, sejam no nível morfológico, biológico ou mesmo sorológico (LUNDE & JACOBS, 1965 e 1983; CHRISTIE & DUBEY, 1977; FRENKEL, 1977; MEHLHORN & FRENKEL, 1980; ARAÚJO *et al.*, 1984).

2.2. Aspectos biológicos

O ciclo de vida do *T. gondii* é dividido em duas etapas distintas, o enteroepitelial e o extra-intestinal. O ciclo enteroepitelial, típico dos coccídios, com formação dos oocistos, ocorre somente em felídeos. O ciclo extra-intestinal pode ocorrer em hospedeiros felídeos ou não (FRENKEL, 1973). Os três estágios infectantes do *Toxoplasma* são bradizoítos, em cistos tissulares, os taquizoítos, formas proliferativas nos tecidos durante a infecção aguda, e os esporozoítos, nos oocistos esporulados (TURNER, 1978).

A ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados originados de fezes de felídeos ou a ingestão de cistos em carnes crua ou mal cozidas são as duas principais vias de transmissão pós-natal do *T. gondii* (DUBEY & BEATTIE, 1988).

Os hospedeiros transportes como artrópodes e anelídeos, podem estar envolvidos na cadeia epidemiológica deste protozoário (WALLACE, 1973; RUIZ &

FRENKEL, 1980), e esses podem veicular os oocistos de um local para o outro (FRENKEL, 1972; HUGHES, 1985).

O *T. gondii* pode ser observado em vários tecidos de vertebrados (FRENKEL, 1972; MILLER *et al.*, 1972), exceto nas hemácias de mamíferos; suas formas podem ser vistas, também, em líquidos orgânicos como saliva, leite, urina e transudato peritoneal. Ainda, desenvolvem todas as fases do seu ciclo biológico em células da mucosa intestinal (JEWELL *et al.*, 1972; DUBEY, 1986; FRENKEL, 1986), sendo sua fase final, os oocistos, eliminados junto com as fezes.

2.2.1. Ciclo enteroepitelial

Felídeos eliminam oocistos após ingestão de qualquer dos três estágios infectantes de *T. gondii*, isto é, taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. O período pré-patente e a frequência de eliminação de oocistos varia de acordo com o estágio do *T. gondii* ingerido (DUBEY, 1996; DUBEY & FRENKEL, 1976; FREYRE *et al.*, 1989). O período pré-patente é de 3 a 10 dias após ingestão de bradizoítos, mais de 18 dias após a ingestão de oocistos (DUBEY, 1996), e mais de 13 dias após ingestão de taquizoítos (DUBEY, 1998). Menos de 30% dos gatos eliminam oocistos após ingestão de oocistos ou taquizoítos, e praticamente todos os gatos eliminam oocistos após ingestão de cistos tissulares (DUBEY, 1996; DUBEY & FRENKEL, 1976).

Após a ingestão dos cistos tissulares pelos gatos, sua parede é dissolvida pela ação de enzimas proteolíticas no estômago e intestino delgado. Os bradizoítos penetram nas células epiteliais do intestino delgado e iniciam o desenvolvimento de numerosas gerações de *T. gondii*. Cinco tipos distintos morfologicamente de *T. gondii* se desenvolve nas células epiteliais intestinais antes de se iniciar a gametogonia (DUBEY & FRENKEL, 1972), esses estágios são designados merontes de A à E.

Após o desenvolvimento assexuado, merontes de A à E, o ciclo sexuado se inicia 2 dias após a ingestão dos cistos pelo felídeo. A origem dos gametas ainda não está bem determinado, mas os merozoítos originados dos merontes D e E provavelmente iniciam a formação dos gametócitos. Os macro e microgametócitos são encontrados no intestino delgado, mas mais comumente no íleo, de 3 a 15 dias após infecção (DUBEY *et al.*, 1998).

Os microgametócitos liberam em torno de 21 microgametas, estes usam seus flagelos nadando em direção ao macrogametócito, penetram e fertilizam o macrogametócito maduro dando origem ao zigoto. Após a fertilização a parede do oocisto é formada em torno do parasito. Ocorre ruptura das células epiteliais intestinais e liberação dos oocistos no lúmen intestinal, que posteriormente serão eliminados junto com as fezes (DUBEY *et al.*, 1998).

2.2.2. Ciclo extra-intestinal

A infecção pode ocorrer pela ingestão de oocistos esporulados, pela ingestão de cistos ou por via transplacentária através dos taquizoítos, afetando o feto (TURNER, 1978). Após a infecção, desenvolve-se, inicialmente, taquizoítos, que possuem a capacidade de parasitar vários tipos celulares, sendo essas formas observadas durante a infecção aguda (FRENKEL, 1973), ocorre uma parasitemia e formação de cistos após resposta imunológica do hospedeiro (TURNER, 1978).

Cistos tissulares são característicos de infecções crônicas e podem ocorrer em qualquer tecido do hospedeiro (KOESTNER & COLE, 1960). Sua parede isola os bradizoítos 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 do hospedeiro (DUBEY, 1977).

2.3. Toxoplasmose

O *T. gondii* é um protozoário que infecta a maioria dos vertebrados de sangue quente, causando doença em animais e no homem (DUBEY, 1977; DUBEY & BEATTIE, 1988). Infecções adquiridas recentemente são importantes causas de abortos espontâneos nos animais domésticos (DUBEY & BEATTIE, 1988) e doenças congênitas em humanos (DESMONTS & COUVREUR, 1974; WONG &

REMYINGTON, 1994). Este protozoário é um importante patógeno oportunista devido a reativação de infecções crônicas em hospedeiros imunocomprometidos, sejam os que realizaram, transplante de órgãos, quimioterapia para câncer (ISRAELSKI & REMINGTON, 1993) e pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida Humana (SIDA) (LUFT & REMINGTON, 1992).

A maioria das infecções por *T. gondii* não apresenta doença clínica. No caso de infecção congênita, cerca de 25% das infecções maternas adquiridas no primeiro trimestre e cerca de 65% no terceiro trimestre levam a infecção congênita, sendo que as infecções adquiridas no início da gestação são mais severas (DESMONTS & COUVREUR, 1974). Em pacientes imunocomprometidos, somente 30% dos pacientes com infecção crônica por *T. gondii* vão desenvolver grave patologia no sistema nervoso central (SNC) (LUFT & REMINGTON, 1992). As razões desta penetração parcial não são compreendidas, mas presumivelmente reflete uma combinação entre a genética do hospedeiro, seu estado imunológico, a quantidade de parasitas no tecido e sua carga genética.

Na maioria das infecções primárias, a toxoplasmose é benigna, causando sintomatologia discreta, antes de levar a uma fase crônica que tipicamente permanece subclínica. A transição entre a fase aguda e a crônica é acompanhada pela alteração da forma de taquizoíta, forma de replicação rápida, que é lítica, para uma de desenvolvimento lento, bradizoíta, contida dentro de cistos tissulares (FRENKEL, 1988). Cistos eventualmente se rompem, restabelecendo a infecção aguda (FRENKEL & ESCAJADILLO, 1987).

Em camundongos, cistos estão presentes por toda a vida do hospedeiro infectado e estudos sorológicos revelam persistência similar nos outros animais, incluindo o homem. Sendo assim, a toxoplasmose é controlada por uma vigorosa resposta imune mediada por células, capaz de matar células infectadas e parasitas (KRAHENBUHL & REMINGTON, 1982). A presença continuada dessa resposta não só tem prevenido a uma possível recaída, mas também diminui a patologia em hospedeiros infectados cronicamente.

2.4. Fatores que influenciam a severidade da doença

O resultado de uma infecção primária com *T. gondii* depende de um número de fatores que combinados influenciam na severidade da doença. Em camundongos, inoculações com altas doses de taquizoítas ou bradizoítas levam a uma infecção aguda que pode culminar com a morte (DEROUIN & GARIN, 1991). A causa da morte durante uma infecção aguda é relatada por alta parasitemia e subsequente inflamação e necrose principalmente nos pulmões, fígado e SNC (McLEOD *et al.*, 1989; DEROUIN & GARIN, 1991). Parasitemia e mortalidade são proporcionais ao tamanho do inóculo (ARAUJO *et al.*, 1976), mas o estágio do parasita e a via de inoculação tem grande influência no resultado da infecção em camundongos (BROWN & McLEOD, 1994). Doses baixas, particularmente de cepas de baixa virulência, resultam numa infecção aguda que são controladas pelo sistema imune resultando uma infecção crônica (SUMYUEN *et al.*, 1995). Várias cepas

semelhantes dão origem a uma infecção crônica, tipicamente encefalite, que é associada com a diminuição da imunidade celular e a diminuição da produção de citocinas do tipo Th1, IFN- γ e IL-2, (SUZUKI *et al.*, 1991; HUNTER *et al.*, 1992 e GAZZINELLI *et al.*, 1993).

Suscetibilidade para toxoplasmose varia com as diferentes espécies de hospedeiros. Camundongos, coelhos e hamsters são todos relativamente suscetíveis, assim como animais que evoluíram na ausência significativa de predação por felinos, como marsupiais australianos, lêmures de Madagascar e macacos do Novo Mundo (FRENKEL, 1988). Entre os animais domésticos, aborto causado por toxoplasmose ocorre em suínos, ovinos e caprinos (DUBEY & BEATTIE, 1988), enquanto eqüinos e bovinos são relativamente resistentes a infecção e tem uma taxa de infecção muito baixa (DUBEY, 1992). Assim sendo, a suscetibilidade a este agente etiológico varia de acordo com o estado imunológico, onde animais jovens são mais suscetíveis que adultos de uma mesma espécie (DUBEY & BEATTIE, 1988). Essa tendência é particularmente demonstrada em animais neonatos e em parte se explica a severa patologia que pode ocorrer em infecções congênicas (GROSS, 1996).

2.5. Toxoplasmose em aves

DHILLON *et al.* (1982), descreveram toxoplasmose visceral em 23 "mynah" (*Acridotheres*), estes tiveram inapetência, depressão e penas eriçadas antes do óbito. À necropsia foi observado, hepatomegalia com múltiplos focos brancos

subcapsulares, congestão pulmonar, sacos aéreos espessados e baço friáveis. No exame histopatológico foi observado hepatite granulomatosa difusa, pneumonia, miocardite mononuclear focal, aerosaculite e esplenite.

HOWERTH *et al.* (1991), diagnosticaram doença em um papagaio vermelho (*Eos bornea*) com hepatomegalia e consolidação pulmonar. Histologicamente observaram, miocardite necrozante, pneumonia intersticial com necrose multifocal e vasculite, e hepatite necrozante multifocal com necrose hepatocelular periacinar. Organismos semelhantes a *T. gondii* foram observados nos pulmões, coração e fígado.

LINDSAY *et al.* (1991), infectaram 3 falcões de rabo vermelho (*Buteo jamaicensis*) com cistos de *T. gondii*. O parasito foi reisolado do coração, músculo peitoral e de uma mistura de proventrículo e moela após inoculações em camundongos. Testes sorológicos realizados nos animais demonstraram que 2 dos 3 falcões tiveram progressiva concentração na taxa de anticorpos.

MIKAELIAN *et al.* (1997), observaram na coruja de barrete (*Strix varia*) marcadas áreas pálidas multifocais no fígado. Na análise histopatológica foi encontrada severa hepatite necrótica multifocal com numerosos taquizoítos dentro do foco necrótico e no citoplasma de hepatócitos e macrófagos, esses foram identificados por imunohistoquímica. Foi observado também aerosaculite e pericardite.

HOWERTH & RODENROTH (1985), reportaram o primeiro caso de toxoplasmose fatal em perus selvagens (*Meleagris gallopavo*), macroscopicamente,

o animal apresentava marcada esplenomegalia, áreas de consolidação pulmonar e erosões na mucosa do ceco e cólon. Microscopicamente, encontraram necrose difusa com grande exsudação fibrinosa e acúmulo de macrófagos no baço. Pneumonia intersticial não supurativa envolvendo muitos lóbulos respiratórios, parede dos capilares pulmonares espessados e infiltração de linfócitos e macrófagos. Necrose multifocal com infiltrado mononuclear na adrenal, fígado, cérebro, rins, lâmina própria do proventrículo, túnica muscular do esôfago e cólon. O parasito foi visualizado no fígado, pulmões, adrenal, cérebro, baço, proventrículo, esôfago e cólon.

LINDSAY *et al.* (1994) também trabalhando com perus selvagens (*Meleagris gallopavo*) detectaram que 50% dos animais pesquisados possuíam o parasito em seus tecidos, através de inoculações em camundongos e 71% foram positivos para a pesquisa de anticorpos pelo teste de aglutinação direta modificada (MAT).

PARENTI *et al.* (1986), diagnosticaram um surto de toxoplasmose em canários e outras aves ornamentais. Clinicamente as aves apresentavam anorexia, prostração, perda de peso, dispnéia e diarreia acompanhada de uma alta mortalidade. À necropsia observou-se hepatoesplenomegalia e atrofia muscular. Já na histopatologia, verificou-se, pulmões necrótico com hemorragia disseminada e acentuada destruição do parênquima, severa pneumonia com infiltrado granulocítico; necrose acompanhado de infiltrado granulocítico e hiperemia foram observados no fígado, baço e rins; miocardite necrótica focal com infiltrado mononuclear, estas

lesões foram semelhantes as observadas na musculatura esquelética. Após tratamento específico para toxoplasmose os sintomas e mortes cessaram, mas 4 meses depois, algumas aves apresentaram atrofia ocular, estas foram necropsiadas e observou-se lesões inflamatórias perivasculares compostas de células mononucleares e formação de granuloma com necrose central no cérebro e infiltrado mononuclear nas pálpebras e conjuntiva, freqüentemente resultando em úlceras córneas e perfurações, e uma inflamação granulomatosa não purulenta na túnica vascular.

LINDSAY *et al.* (1995), descreveram sintomatologia nervosa em canários, principalmente, nistágmo, ataxia, rotação de cabeça e cegueira. Os animais apresentavam meningoencefalite focal não supurativa com gliose, infiltrado mononuclear perivascular. As lesões estavam associadas à presença de cistos de *T. gondii*. Os animais apresentavam também forte inflamação ocular. VICKERS *et al.* (1992) também relacionaram *T. gondii* à cegueira em canários.

A primeira descrição da toxoplasmose espontânea em galinhas foi feita na Alemanha, por HEPDING (1939), em uma galinha com neurolinfomatose e retinocoroidite necrozante, o parasito foi encontrado no exame histológico da retina. SPARAPANI (1950), na Itália, descreveu uma doença em galinhas com algumas evidências de ter sido ocasionada pelo *T. gondii*. Na Suíça, FANKAUSER (1951), relata o caso de uma galinha que apresentou lesão cerebral pelo *T. gondii* com grande número de parasitos livres e intracelulares. BORN (1951), na Alemanha, suspeitando de um possível envolvimento de galinhas, na infecção do homem por *Toxoplasma*, encontrou positividade, nas diluições de 1:25 e 1:100, em duas de três galinhas por

ele pesquisadas, utilizando o teste de corante. SCHULTE (1954), também na Alemanha, observou encefalite por *T. gondii* em galinhas.

No surto descrito por ERICHSEN & HARBOE (1953), a doença apresentava-se de evolução variável, algumas aves morriam sem qualquer sintomatologia, outras, ficavam até um mês doente, apresentando anorexia, apatia e cegueira. No exame histológico, o *T. gondii* foi encontrado no coração, cérebro, pulmões, fígado, proventrículo e no intestino delgado. As lesões associadas com a presença do parasito foram pericardite serosa, miocardite focal ou difusa, pneumonia necrozante, encefalite focal necrozante, hepatite necrozante e gastroenterite ulcerativa. Em três casos, observou-se coroidite difusa, mas sem a presença do parasito.

NÓBREGA *et al.* (1955) relataram uma evolução de 4 a 5 dias, com prostração, penas arrepiadas, asas caídas, olhos fechados. Conjuntivite unilateral intensa, não associada a presença do parasito foi observada em um frango. Os achados de necropsia mais importantes foram, fígado e baço aumentados de volume, os quais apresentavam nódulos branco-amarelados variáveis em número e tamanho e pulmão com extensas áreas de congestão e consolidação. Ao exame histológico foi observado pneumonia associada à presença do *T. gondii* no interior de células mononucleares, pericardite e miocardite com moderada quantidade de parasitas entre as fibras, e lesões necrótico-inflamatórias no fígado e no baço com parasitas apresentando-se isolados ou em grupos. Foi possível o isolamento do *T. gondii* do fígado, baço e pulmões. No cérebro não foram observadas lesões, com exceção de

um caso com focos de necrose sem reação inflamatória. Entretanto, pôde-se isolar o parasita do cérebro de dois animais mortos após a fase aguda da doença e igualmente do cérebro de 23 animais sobreviventes, 4 a 6 meses após o surto. A cepa isolada de 76,6% dos animais doentes e clinicamente sadios, não foi capaz de provocar sintomatologia em aves infectadas experimentalmente com taquizoítas por via oral.

BIERING-SORENSEN (1956) considerou, a necrose do quiasma óptico, como sendo uma lesão característica de toxoplasmose em galinhas.

PEIXOTO & LOPES (1991) isolaram *T. gondii*, em 30% de galinhas de criação rústica examinadas no antigo distrito de Seropédica em Itaguaí, Rio de Janeiro.

DUBEY *et al.* (1993) infectaram galinhas com *T. gondii*, embora estas não apresentassem quaisquer sinais clínicos da doença, foi possível o isolamento do parasito 68 dias após a infecção.

DEVADA *et al.* (1998) pesquisando anticorpos contra *Toxoplasma* em 185 galinhas na cidade de Madras, Índia, obteve 39,5% de animais positivos.

2.6. Coccídios em codornas da espécie *Coturnix coturnix*

FLAUSINO (1999), infectou codornas com taquizoítas de *T. gondii* e clinicamente observou elevação de temperatura corporal nos animais infectados quando comparados ao grupo controle, assim como também, diminuição do consumo de ração. À necropsia as aves apresentavam uma esplenomegalia acentuada. Formas

do parasito foram isoladas em camundongos albinos até 90 dias após a infecção (DAI).

DUBEY *et al.* (1994), infectaram codornas com duas cepas diferentes de *T. gondii*, uma de alta virulência e outra de baixa. Das 12 codornas infectadas com a cepa de alta virulência, apenas uma sobreviveu até o final do experimento, enquanto que as infectadas com a cepa de baixa virulência apenas 2 animais morreram antes do fim do experimento. As aves mortas ou sacrificadas durante a fase aguda apresentaram uma severa pneumonia, miocardite e meningoencefalite. Os animais sacrificados na fase crônica com 63 DAI, apresentavam uma moderada encefalite não purulenta multifocal, miosite e uma hipertrofia esplênica com pigmentos de hemossiderina.

Outros coccídios, além do *Toxoplasma*, afetam codornas, dentre eles parasitos do gênero *Eimeria* com as espécies *E. uzura* (TSUNODA & MURAKI, 1971), *E. tsunudai*, (TSUTSUMI, 1972), *E. taldykurganica* (SVAMBAEV & UTEBAEVA, 1973) e *E. bateri* (BHATIA, *et al.*, 1965).

RUFF *et al.* (1984), estudaram a patogenicidade das espécies *E. uzura*, *E. tsunudai*, *E. taldykurganica* em codornas e observaram uma produção de um conteúdo intestinal aquoso com gotejamento, morte de um animal, diminuição do ganho de peso, sendo as codornas mais jovens mais susceptíveis.

2.7. Origem das codornas

A codorna doméstica (*C. c. japonica*) foi obtida através de vários cruzamentos com codornas selvagens, devendo-se principalmente aos japoneses e chineses, que a partir de 1910, após várias tentativas, conseguiram essa raça domesticada, tornando a espécie própria para pequenas gaiolas e produção em série de carnes e ovos. A sua comercialização, no Brasil, é relativamente recente se comparada aos países europeus, que desde o século passado já haviam difundido sua exploração e comercialização (CORRADELLO, 1990). Assim sendo, pode indentificar estes animais como da Ordem Gallinacea, Família Faisanidae, Sub-família Perdicinae e Gênero *Coturnix*.

Sendo as variedades mais exploradas: *C. c. japonica* (codorna doméstica ou japonesa) e *C. c. coturnix* (codorna selvagem ou européia).

Além desta atividade produtiva, essa espécie tem sido considerada como um bom modelo aviário para ensaios biológicos (ICHILCIK & AUSTIN, 1978).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Procedência dos animais

3.1.1. Codornas

Foram utilizadas 110 codornas fêmeas (*C. c. japonica*) com aproximadamente 30 dias de idade, obtidas de um criatório no município de Petrópolis, Rio de Janeiro.

3.1.2. Camundongos

Utilizou-se 740 fêmeas jovens de camundongos albinos (*Mus musculus*) Swiss Webster, com peso aproximado de 20 ± 2 g, procedentes do Biotério Central do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro.

3.2. Local do experimento

O trabalho foi desenvolvido em sua totalidade na Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, localizada no Departamento de Parasitologia Animal, do Instituto de Biologia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro. Os animais foram mantidos durante todo o experimento em gaiolas apropriadas à criação de codornas.

3.3. Obtenção e manutenção dos taquizoítas de *Toxoplasma gondii*

Para obtenção dos taquizoítas, foram inoculados 20 camundongos albinos com taquizoítas de *T. gondii*, por via intraperitoneal, com a amostra SERO-47, isolada de coração de galinha por MEDEIROS & LOPES (1996), na cidade de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, e 10 camundongos albinos com a amostra 'P', oriunda do Centro de Pesquisas Parasitológicas (CPPAR/UNESP/Jaboticabal).

3.4. Preparação do inóculo

Ao material infectante obtido foi adicionado 1000 UI de penicilina G potássica¹ e 100 µg de estreptomicina². Este material foi diluído sucessivamente em

¹ Laboratório Teuto Brasileiro Ltda, Brasil

² Eurofarma Laboratórios Ltda, Brasil

solução salina³ a 0,9%, até que a mistura obtida tivesse o equivalente a 10^6 , 10^4 taquizoítas por ml de solução da cepa SERO-47 e 10^5 da cepa 'P'. Para tanto foi utilizada uma câmara de Neubauer⁴ para contagem dos parasitos

3.5. Inoculação das codornas

Dos animais infectados, 30 receberam um inóculo contendo 10^4 taquizoítas da cepa SERO-47, 30 receberam um inóculo com 10^6 taquizoítas da mesma cepa e 20 receberam 10^5 taquizoítas da cepa 'P', os outros 30 animais foram utilizados como controles, recebendo placebo. Todos os animais foram inoculados por via subcutânea.

3.6. Acompanhamento das aves durante a fase experimental

A cada grupo de animais, foi dado no dia da inoculação, 400 g de ração⁵ e nos dias subseqüentes, esta era completada a medida do consumo. A água foi dada *ad libitum* em recipientes adequados às gaiolas.

Peso e temperatura corporal (cloacal) de cada ave foram aferidos até o final do experimento, utilizando-se uma balança eletrônica de precisão⁶ e termômetro clínico⁷

³ Labormédica Industrial Farmacêutica Ltda, Brasil

⁴ Blankenburg, República Federal Alemã

⁵ Sítios e Quintais, Rio de Janeiro, Brasil

⁶ Balança Precision PR5000 SPEC, Brasil

⁷ Termômetro Clínico Pediátrico

pediátrico, respectivamente. As anotações relativa a cada ave foram feitas diariamente.

3.7. Necropsias das aves

3.7.1. Cepa SERO-47 e controle

As codornas foram anestesiadas em câmara saturada de éter e após sacrificadas por degola nos dias 1, 3, 7, 14, 21 e 70 após infecção (DAI). Procedeu-se o sacrifício de cinco animais de cada grupo, a cada data, sendo estes animais previamente anestesiados em câmara saturada de éter e posteriormente retirado o sangue por punção da veia jugular.

3.7.2. Cepa 'P'

As codornas também foram anestesiadas em câmara saturada de éter e após sacrificadas por degola nos dias 3, 7, 14 e 70 após infecção (DAI). Procedeu-se o sacrifício de cinco animais de cada grupo, a cada data, sendo estes animais anestesiados em câmara saturada de éter e posteriormente retirado o sangue por punção da veia jugular.

Após a necropsia e evisceração, cada carcaça, cérebro, coração, pulmões, fígado, baço e moela foram pesados e preparados para análise laboratorial. A avaliação

do desenvolvimento ponderal foi realizado, verificando-se a relação peso dos órgãos por peso vivo, sendo o resultado expresso em valores percentuais.

3.8. Isolamento do *T. gondii* em camundongos

Com a finalidade de se verificar o estabelecimento da infecção, fragmentos da musculatura peitoral de todas as codornas necropsiadas no 1º, 3º, 7º, 14º e 21º DAI e do fígado, baço, pulmões, cérebro, coração e músculo no 70º DAI foram coletados. Posteriormente, cada fragmento foi triturado em gral e pistilo estéreis, homogeneizados em 8 ml de solução salina 0,9% e filtrados através de gaze estéril de 4 camadas. A esse material foram adicionadas 1000 UI de penicilina G potássica e 100 µg de estreptomicina. A suspensão de fragmentos de órgãos foi inoculada intraperitonealmente em camundongos albinos. Para cada suspensão de órgãos foram utilizados 3 camundongos, sendo que cada animal recebeu 2 ml de inóculo, perfazendo desta maneira um total de 630 camundongos.

Os camundongos foram observados diariamente após a inoculação, durante trinta dias. Os animais que morreram ou que se apresentaram com aumento de volume abdominal durante o período observacional, foram examinados para averiguação da presença de *T. gondii*, que foi feita através de microscopia do exsudato peritoneal.

Com o objetivo de verificar a transmissão de *T. gondii* através dos ovos, 35 ovos provenientes de codornas infectadas e 5 de codornas do grupo controle, foram preparados para serem administrados em camundongos, obedecendo a mesma

metodologia descrita acima , sendo utilizado 2 camundongos por ovo, totalizando 80 animais.

3.9. Sorologia dos camundongos

Aos trinta dias após inoculação, os camundongos sobreviventes foram anestesiados em câmara saturada de éter e amostras de sangue coletadas do plexo braquial. O sangue obtido, foi centrifugado e o soro retirado para realização da pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii*, pelo teste de hemaglutinação indireta⁸.

3.10. Procedimentos laboratoriais

3.10.1. Preparo e coloração dos esfregaços

Para pesquisa das formas endógenas de *T. gondii* em codornas foram feitos, impressões de cérebro, coração, pulmões, fígado, baço e rins, os quais foram secos ao ar, fixados em metanol por três minutos e corados pelo Giemsa⁹, na proporção de 1 ml de solução tampão pH 7.2 para três gotas do corante, por 30 minutos.

⁸ HEMATOXO^R, BIOLAB, Brasil

⁹ Merck, República Federal Alemã

3.10.2. Exame dos esfregaços e mensuração das formas endógenas

As formas endógenas de *T. gondii* observadas nos esfregaços de cérebro, coração, pulmões, fígado, baço e rins, foram mensuradas com auxílio de uma ocular micrométrica K-15x¹⁰, acoplada ao microscópio óptico triocular¹¹ e objetiva de imersão.

3.10.3. Exame histopatológico

Fragmentos de cérebro, fígado, baço, rins, músculo, coração, pulmões, moela, olhos, bursa de Fabricius, de todas as aves foram fixados em solução de formalina à 10%, processados, e corados por Hematoxilina-Eosina (H-E).

3.11. Fotomicrografias

As estruturas identificadas como taquízoítas de *T. gondii* e as lesões dos órgãos, foram fotografadas com auxílio de equipamento fotográfico¹² e câmera¹³,

¹⁰ PZO, República da Polônia

¹¹ Dialux 20EB – Leitz, República Federal Alemã

¹² Wild Photoautomat MPS 55, Suíça

¹³ Wild MPS 51, Suíça

acoplados ao microscópio óptico triocular e com filme Elitechrome Kodak 135 mm, 100 ISO¹⁴.

3.12. Análise estatística

Para análise estatística dos dados, utilizou-se o teste T de Student e Tukey com auxílio do programa Graph Pad Instattm, Copyright 1990-1994, Graf Pad Software v2-05 a 9504225.

¹⁴ Kodak, USA

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As modificações mais evidentes encontradas em codornas, muitas vezes, não são semelhantes as observadas em todos os vertebrados passíveis de serem infectados com formas infectantes do *T. gondii*. No entanto, algumas alterações podem ser observadas com maior frequência, independente da cepa utilizada e a susceptibilidade da espécie animal estudada.

4.1. Alterações macroscópicas nas codornas

Nos animais infectados com 10^4 taquizoítas/animal da cepa SERO-47 foram observados, hepatomegalia ($p \leq 0,01$) no 7º DAI, esplenomegalia no 3º ($p \leq 0,05$) e no 7º ($p \leq 0,01$) DAI, esta se apresentou de forma mais acentuada que nos animais infectados com 10^6 taquizoítas/animal. Hipertrofia pulmonar foi observada no 7º DAI em todos os animais inoculados com a cepa SERO-47, independente da dose utilizada (Figuras 1, 2 e 3). Tais alterações foram avaliadas com auxílio do peso relativo dos animais infectados frente aos controles. Alterações semelhantes foram observadas, nos mesmos órgãos,

quando codornas foram infectadas com 10^5 taquizoítas/animal da cepa 'P'. Nesses animais foram observados, hepatomegalia acentuada no 7º ($P \leq 0,01$) em relação ao 14 DAI (Figura 4). A esplenomegalia causada pela cepa 'P' foi mais prolongada, indo até o 14º DAI ($p \leq 0,01$) (Figura 5), em relação aos grupos inoculados com a cepa SERO-47. Hipertrofia pulmonar também se fez presente no 7º e 14º DAI (Figura 6) o que diferiu da cepa Sero-47 por ser observado somente no 7 DAI, sem contudo ter caráter expressivo.

As alterações macroscópicas observadas nesta pesquisa foram semelhantes aos encontrados por HOWERTH *et al.* (1991) em um papagaio vermelho e por DHILLON *et al.* (1982) em "mynahs" em infecções naturais por *T. gondii*, onde hepatomegalia, consolidação pulmonar e baço friável foram as alterações mais freqüentes. Da mesma maneira, FLAUSINO (1999) salientou a presença de esplenomegalia em codornas infectadas subcutaneamente com 10^3 taquizoítos/ml da mesma cepa SERO-47.

4.2. Isolamento do *Toxoplasma gondii*

4.2.1. De ovos de codorna

Em nenhum dos 70 camundongos albinos inoculados com os ovos das codornas infectadas foi observado qualquer sinal indicativo da presença do *T. gondii* e também não foram observadas quaisquer formas do parasito nos lavados peritoneais desses camundongos. O mesmo acontecendo com os ovos dos animais controles.

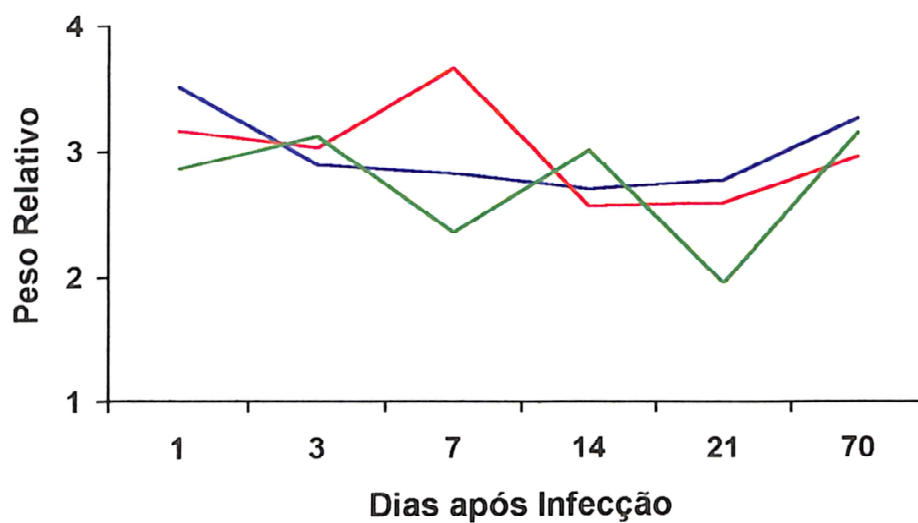


FIGURA 1. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos fígados de codornas inoculadas com 10^6 (---), 10^4 (---) taquizoítas/animal da cepa SERO-47 e grupo controle (---).

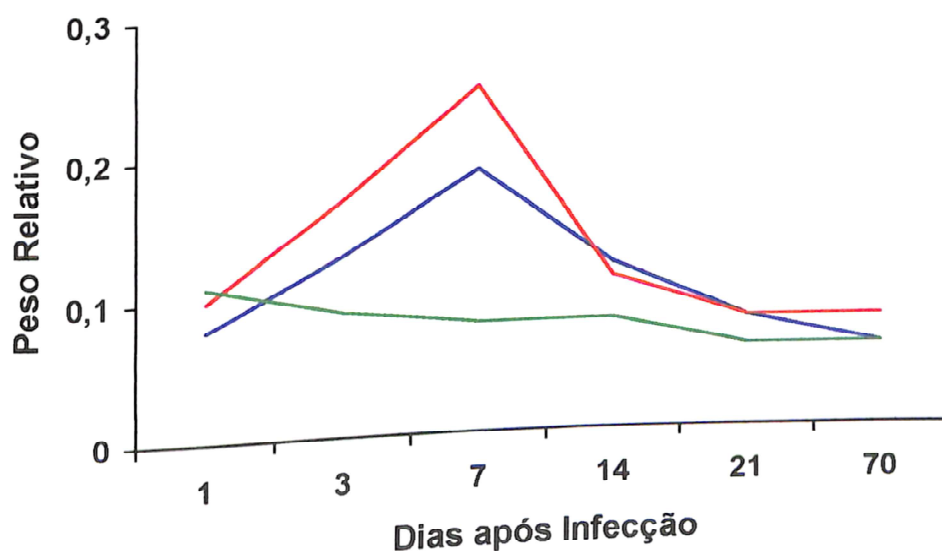


FIGURA 2. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos baços de codornas inoculadas com 10^6 (---), 10^4 (---) taquizoítas/animal da cepa SERO-47 e grupo controle (---).

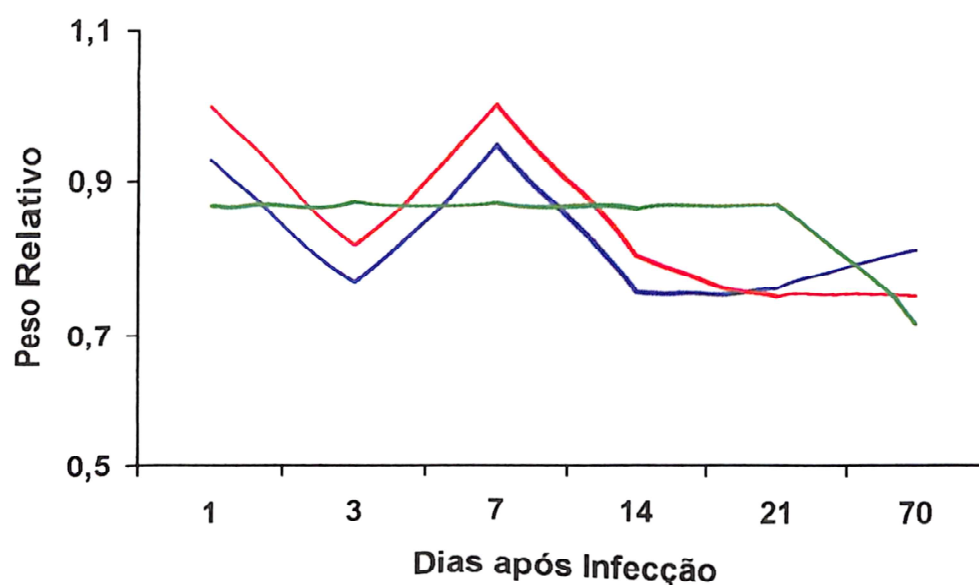


FIGURA 3. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos pulmões de codornas inoculadas com 10^6 (---), 10^4 (---) taquizoítas/animal da cepa SERO-47 e grupo controle (---).

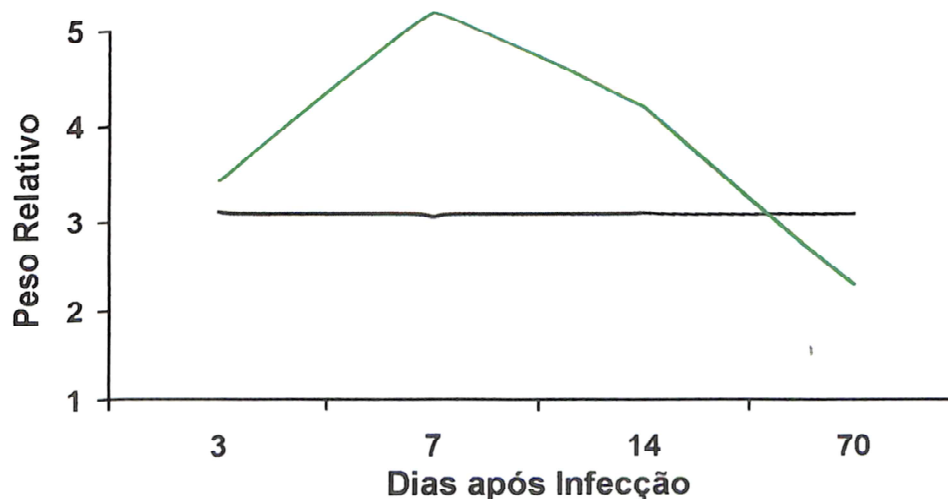


FIGURA 4. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos fígados de codornas inoculadas com 10^5 taquizoítas/animal da cepa 'P' (---) e grupo controle (---).

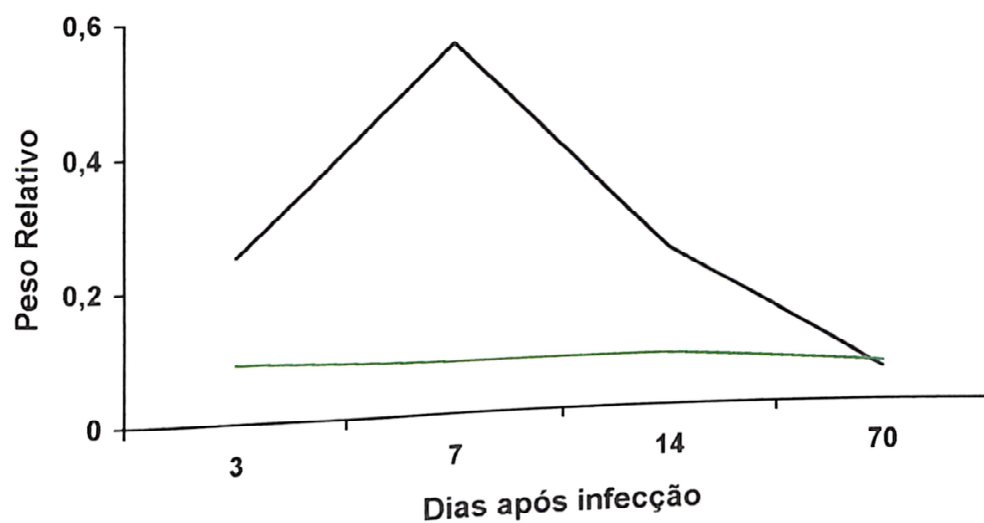


FIGURA 5. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos baços de codornas inoculadas com 10^5 taquizoítas/animal da cepa 'P' (-----) e grupo controle (-----).

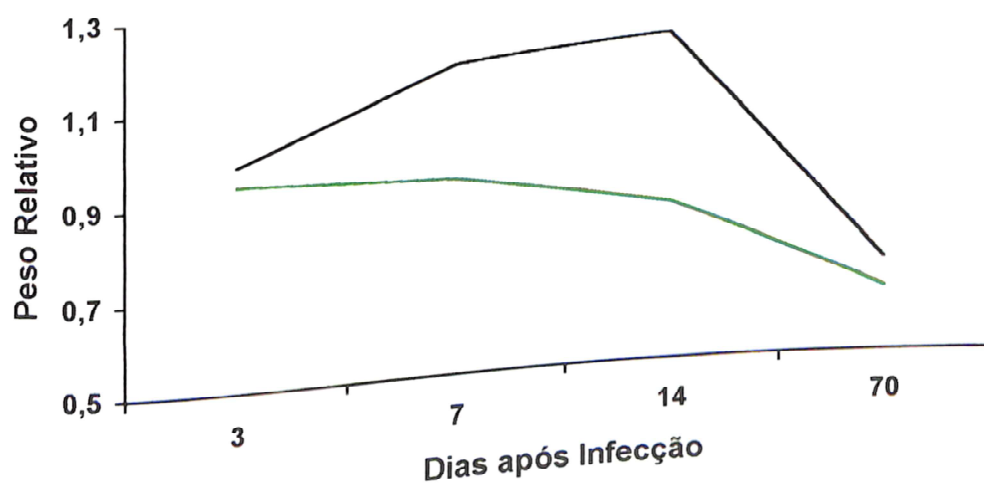


FIGURA 6. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos pulmões de codornas inoculadas com 10^5 taquizoítas/animal da cepa 'P' (-----) e grupo controle (-----).

Resultado semelhante foi descrito por PARENTI *et al.* (1986), no qual os autores não conseguiram isolar o *T. gondii* em camundongos inoculados com ovos de canários com toxoplasmose. Entretanto, JACOBS & MELTON (1966), ao fazer bioprova em camundongos com 327 ovos provenientes de galinhas infectadas experimentalmente com o *T. gondii*, observaram que um destes ovos foi positivo para o protozoário. Já, KINJO (1961) observou formas do parasito em 4 dos 88 ovos de galinhas infectadas com este parasito. Apesar de não ser observado neste trabalho, o consumo de ovo cru continua sendo considerado uma fonte de infecção do *T. gondii* não só para os animais, mas também para o homem.

4.2.2. De tecidos de codornas

Foi possível isolar o parasito da musculatura peitoral dos animais infectados com a cepa SERO-47 no 3º e 7º DAI, independente da dose utilizada, e nos infectados com a cepa 'P' no 3º, 7º e 14º DAI. No 70º DAI nenhum dos órgãos das codornas infectadas com a cepa SERO-47, inoculados em camundongos albinos foram positivos, enquanto que órgãos de quatro das cinco codornas infectadas com a cepa 'P' foram positivos, sendo o músculo e o cérebro os locais de maior frequência (Tabela 1). KANETO *et al.* (1997), utilizando esta mesma cepa em frangos, isolou o parasito do cérebro, retina, pâncreas, baço, rins, coração, proventrículo, fígado, intestinos, pulmões e músculo, aos 35 DAI.

TABELA 1. Persistência da infecção do *Toxoplasma gondii* em diferentes tecidos de codornas aos 70° dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.

ÓRGÃOS	Nº de taquizoítas/ml			Cepa 'P'	Controle
	Cepa Sero-47				
	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁵		
FÍGADO	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5		0/5
BAÇO	0/5	0/5	1/5		0/5
RINS	0/5	0/5	0/5		0/5
CORAÇÃO	0/5	0/5	2/5		0/5
CÉREBRO	0/5	0/5	4/5		0/5
PULMÕES	0/5	0/5	1/5		0/5
MÚSCULO PEITORAL	0/5	0/5	4/5		0/5

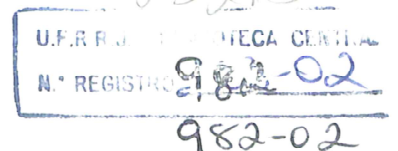
^a Número de animais positivos.

^b Número total de animais infectados.

DUBEY *et al.* (1993), ao utilizarem uma cepa cistogênica em galinhas isolaram *T. gondii* em camundongos aos 68 DAI no cérebro, coração e músculo, enquanto, LINDSAY *et al.* (1991) trabalhando com falcões, isolaram *T. gondii* do cérebro, músculo, coração e de uma mistura de moela e proventrículo, e recentemente DUBEY *et al.* (1994), isolaram o parasito do cérebro, músculo e coração de codornas infectadas experimentalmente aos 63 DAI.

Entretanto, o desaparecimento do *T. gondii* dos tecidos de galinhas foi observado por JONES *et al.* (1959), 4 semanas após infecção. Justificativa ao acontecimento foi apresentada por KINJO (1961), onde afirmou que galinhas tem a tendência de eliminar o parasita dos seus tecidos 1 a 2 meses após a infecção. Resultado semelhante, foi obtido neste trabalho ao analisar tecidos de codornas infectadas com a cepa SERO-47, onde não foi possível isolar do parasito no 70º DAI.

Como foi observado, codornas e outras aves podem eliminar o *T. gondii* de seus tecidos, porém em alguns casos o parasito pode permanecer viável sem causar qualquer transtorno ao hospedeiro. Mesmo assim, os autores acima não relataram se estas condições estiveram relacionadas à cepas produtoras de cistos ou não. Visto que a cepa SERO-47 utilizada neste experimento, não apresentou as formas caracterizadas como cistos até o presente momento.



4.3. Sorologia dos camundongos

Todos os camundongos inoculados com órgãos de codornas infectadas com a cepa SERO-47 foram negativos sorologicamente para IgG no teste de hemaglutinação indireta para *T. gondii*.

Quatro animais inoculados com a cepa 'P', previamente considerados positivos na bioprova e que sobreviveram a infecção, foram sorologicamente positivos para IgG (1:16) no teste de hemaglutinação indireta. Por outro lado, todos os animais negativos na bioprova também foram negativos na sorologia.

Este resultado reafirma a presença ou não do *T. gondii* nos órgãos examinados, mesmo sendo negativos para os infectados com a cepa SERO-47.

4.4. Exame Histopatológico das codornas

Não foram observados quaisquer alterações dignas de nota em todos os órgãos analisados dos animais do grupo controle e assim como também nos animais infectados no 1º DAI.

Do 3º ao 21º DAI, em geral, o fígado foi o órgão mais alterado, onde se observou microgranulomas disseminados por todo parênquima e infiltrado inflamatório constituído principalmente por células mononucleares (Figura 7). Algumas vezes, foram notados focos de necrose acompanhados de hemorragia e acúmulo de células mononucleares em volta dos vasos sanguíneos. Foi observado também, vacuolizações

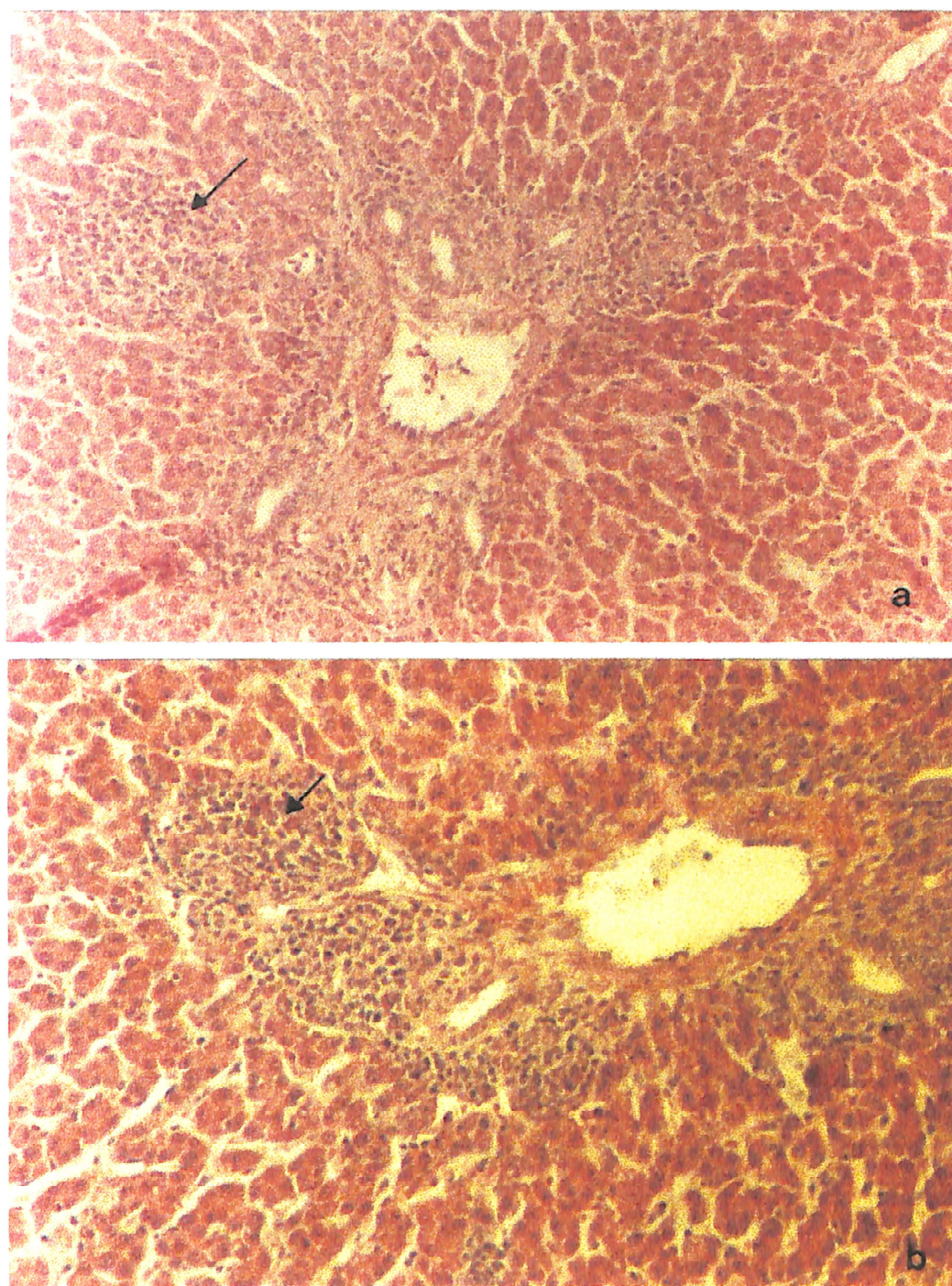


FIGURA 7. Fígado de codornas infectadas com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' (A) e 10^4 da cepa SERO-47 (B) do *Toxoplasma gondii*. Microgranulomas (→) localizados no parênquima hepático próximo ao espaço porta. H E, 200x.

no citoplasma dos hepatócitos, semelhante a degeneração vacuolar não importando a cepa ou dose utilizada (Figura 8).

Constantemente, observou-se a presença de um infiltrado mononuclear com alguns heterófilos entre as fibras musculares, sejam cardíacas, esqueléticas ou mesmo da moela, e algumas vezes, esteve associado a degeneração de Zenker (Figura 9).

No rim somente foram observados pequenos infiltrados de células mononucleares de característica focal (Figura 10).

No Sistema Nervoso Central foi observado reação inflamatória perivascular, composta por células mononucleares, em um animal infectado com a cepa 'P' no 14º DAI (Figura 11).

A lesão observada nos pulmões foi caracterizada por pneumonia intersticial difusa. O interstício achava-se infiltrado por macrófagos, linfócitos e heterófilos. Ocasionalmente, foi observado a presença de tentativa de organização da lesão, em forma de granuloma (Figuras 12).

Esses resultados corroboram aos observados na literatura, que se referiram a inflamações focais ou difusas, com ou sem necrose, em sua maioria foi relatado a presença de células mononucleares em diversos órgãos. HOWERTH *et al.* (1991) observaram miocardite necrozante, pneumonia intersticial com necrose multifocal e vasculite, e hepatite necrozante multifocal com necrose hepatocelular periácinar em um papagaio vermelho. Por conseguinte, MIKAELIAN *et al.* (1997) trabalhando com coruja de barrete, observaram hepatite necrótica multifocal com numerosos taquizoítos dentro do foco necrótico e no citoplasma de hepatócitos e macrófagos, aerosaculite e

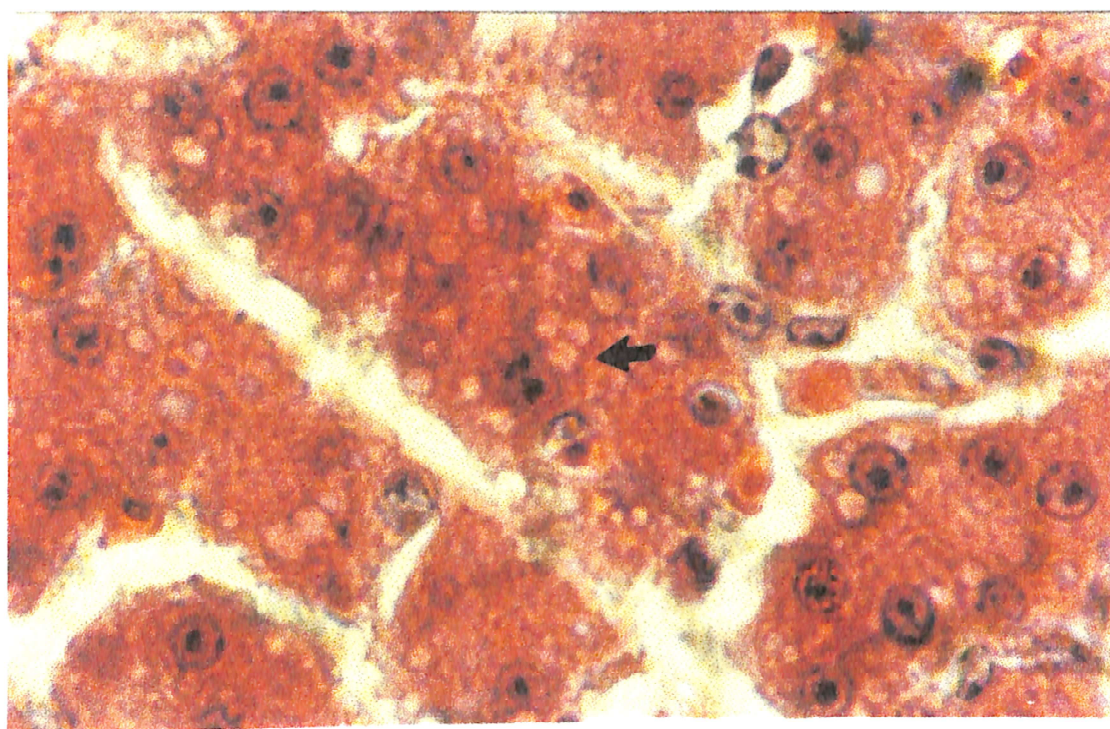


FIGURA 8. Fígado de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Degeneração vacuolar generalizada dos hepatócitos (→). H.E., 1000x.

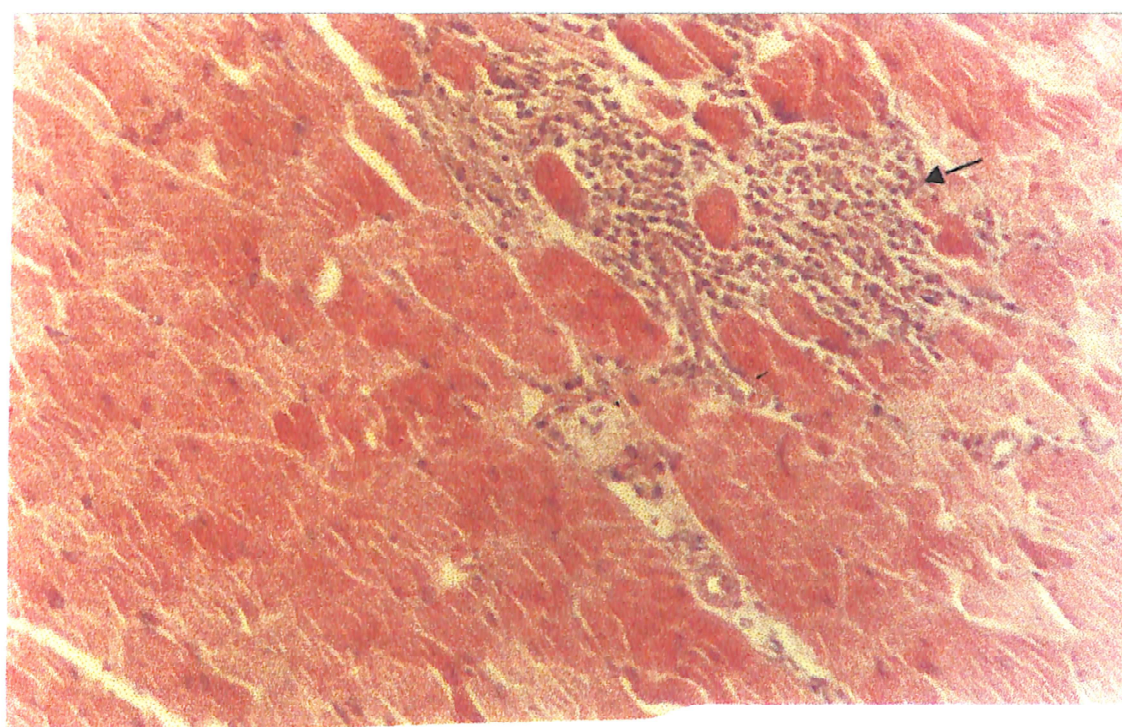


FIGURA 9. Musculatura peitoral de uma codorna inoculada com 10^6 taquizoítas da cepa SERO-47 do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado inflamatório localizado (→). H.E., 200x.

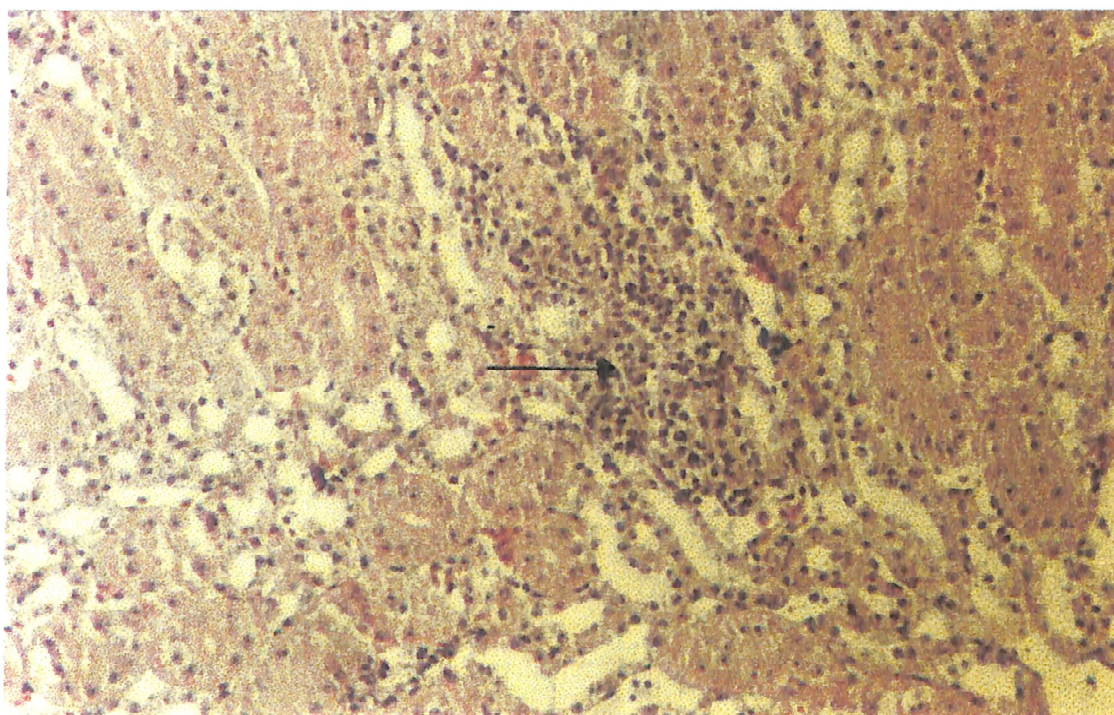


FIGURA 10. Rim de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado inflamatório no interstício do órgão composto por células mononucleares (→). H.E., 200x.

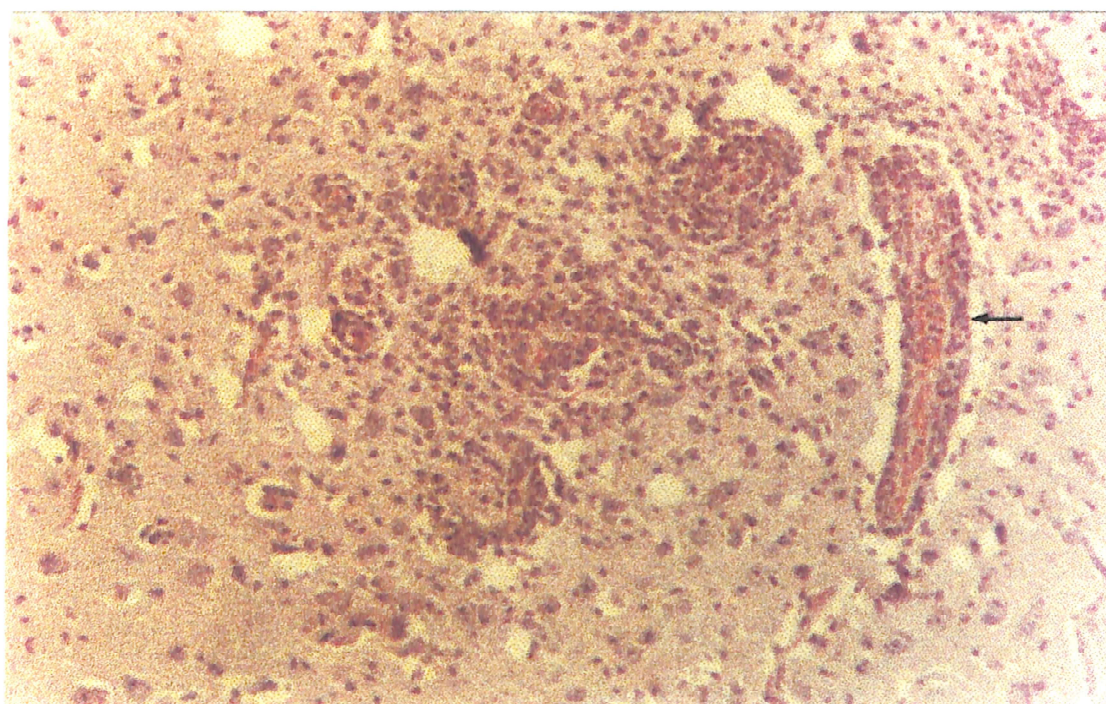


FIGURA 11. Cérebro de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado de células mononucleares ao redor dos vasos sanguíneos (→). H.E., 200x.

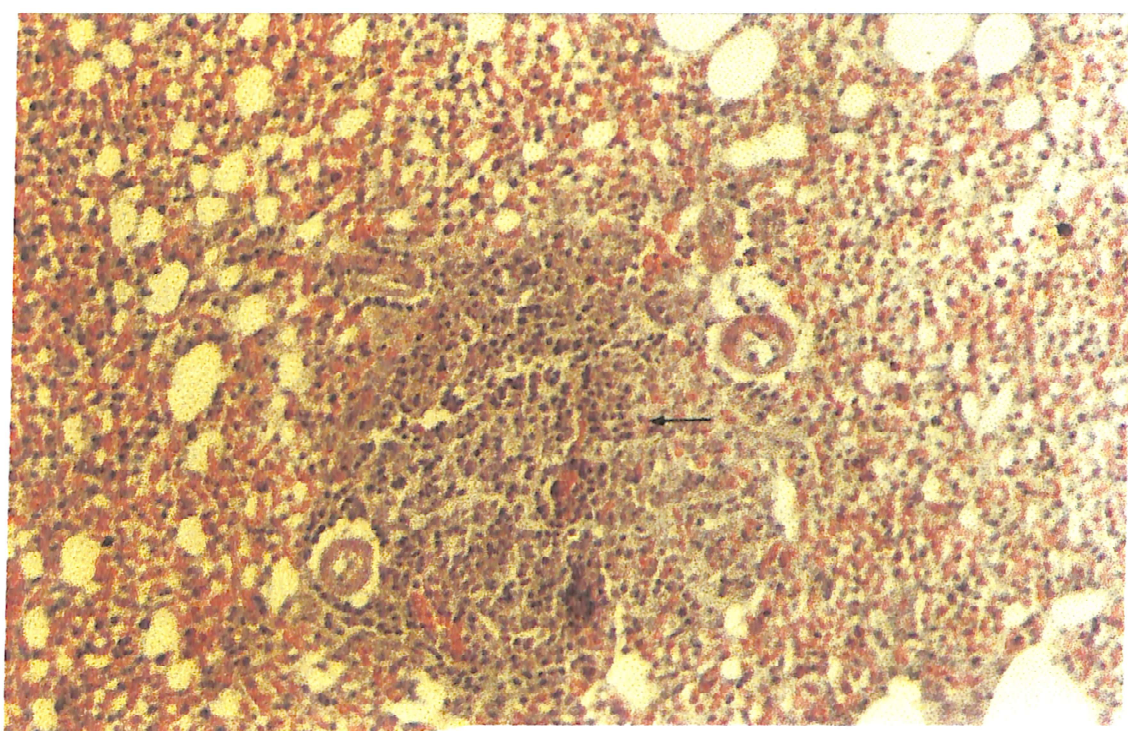


FIGURA 12. Pulmão de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado generalizado de células mononucleares, caracterizando pneumonia intersticial (→). H.E., 200x.

pericardite. Da mesma maneira, HOWERTH & RODENROTH (1985) encontraram necrose difusa com grande exsudação fibrinosa e acúmulo de macrófagos no baço. Pneumonia intersticial não supurativa, envolvendo muitos dos lóbulos respiratórios, parede dos capilares pulmonares espessados e infiltração de linfócitos e macrófagos. Necrose multifocal com infiltrado mononuclear na adrenal, fígado, cérebro, rins, lâmina própria do proventrículo, túnica muscular do esôfago e cólon. Já, PARENTI *et al.* (1986), encontraram em canários, pulmões necrótico com hemorragia disseminada e acentuada destruição do parênquima, severa pneumonia com infiltrado granulocítico. Necrose acompanhado de infiltrado granulocítico e hiperemia no fígado, baço e rins. Miocardite necrótica focal com infiltrado mononuclear, lesões semelhantes também foram observadas na musculatura esquelética

Nos pulmões também foi observado presença de sangue nos alvéolos, provavelmente esse achado se deva à forma de sacrifício dos animais por degola, com grande possibilidade de aspiração de sangue, pois esta alteração esteve sempre presente em todos os animais, inclusive nos controles.

4.5. Esfregaços dos órgãos

Nos esfregaços dos órgãos dos animais infectados, sacrificados no 1º e 3º DAI, não foram observados formas do parasita, assim como, todos os esfregaços dos animais do grupo controle.

Os taquizoítas de *T. gondii* foram observados em maior quantidade no 7º e 14º DAI e mais facilmente visualizados em esfregaços de órgãos oriundos de codornas infectadas com a cepa 'P' (Figura 13 e 14). *Toxoplasma gondii* foi observado em todos os órgãos analisados, com exceção do cérebro e com maior frequência no fígado e baço (Tabelas 2 e 3). No 21º DAI raros parasitos foram vistos nos esfregaços dos animais inoculados com a cepa SERO-47 (Tabela 4).

No 70º DAI nenhuma das amostras obtidas foi positiva para qualquer forma do parasita nas codornas infectadas com a cepa SERO-47, enquanto nas infectadas com a cepa 'P' foi possível observar cistos (Figura 15) do parasito no cérebro de três animais e no coração de um animal infectado (Tabela 5).

Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por ALBUQUERQUE *et al.* (1996), que observaram taquizoítas no coração, baço, rins, pulmões, fígado de camundongos inoculados com a cepa SERO-47 a partir do 7º DAI.

KINJO (1961) e JACOBS & MELTON (1966), observaram que a parasitemia em galinhas aparecia rapidamente, mas que só ocasionalmente, persistia por mais de duas semanas, mesmo quando se empregava inóculos, que variavam de 10^5 a 10^8 taquizoítas de *T. gondii*. Semelhança esta observada neste trabalho, onde a partir do 14º DAI raras formas do parasito puderam ser observadas.

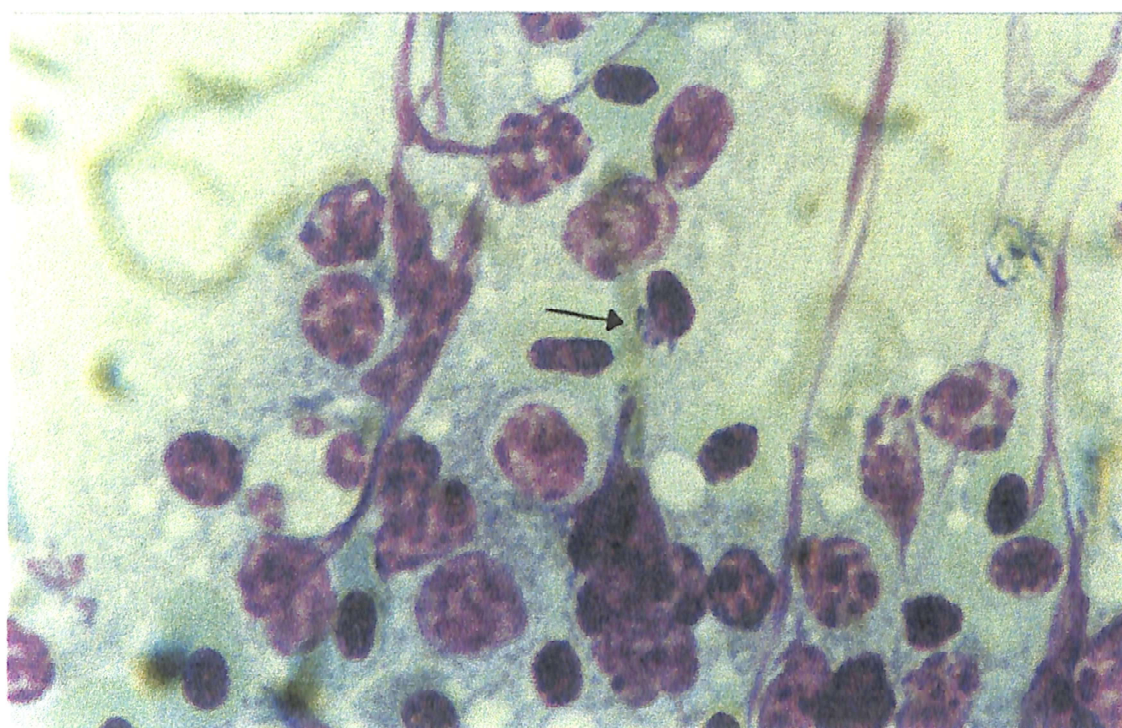


FIGURA 13. Infecção de uma codorna com 10^6 tachizoítas da cepa SERO-47.
Tachizoíta (→) em estirado de fígado. Giemsa, 1000x.

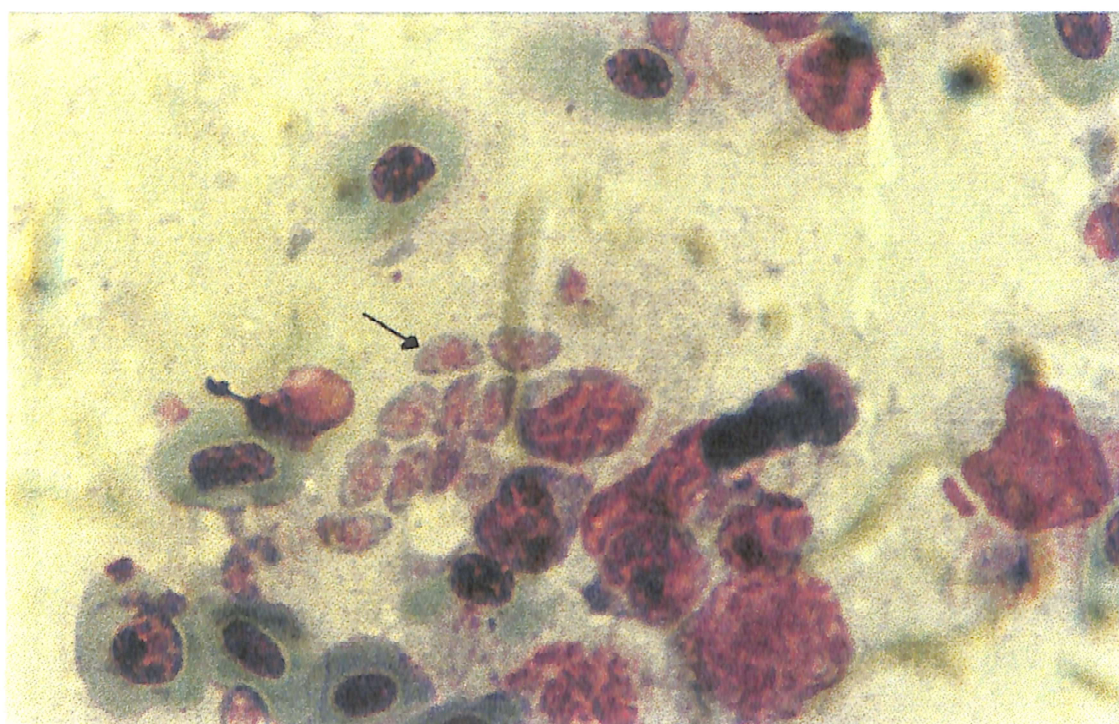


FIGURA 14. Infecção de uma codorna com 10^5 tachizoítas da cepa 'P'. Tachizoíta (→) em estirado de pulmão. Giemsa, 1000x.

TABELA 2. Aspectos comparativos da presença de zoítas de *Toxoplasma gondii* em tecidos de codornas, no 7º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.

ÓRGÃOS	Nº de taquizoítas/ml			Controle
	Cepa Sero-47	Cepa 'P'		
	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁵	
FÍGADO	2 ^a /5 ^b	2/5	3/5	0/5
BAÇO	3/5	2/5	3/5	0/5
RINS	3/5	1/5	2/5	0/5
CORAÇÃO	0/5	0/5	1/5	0/5
CÉREBRO	0/5	0/5	0/5	0/5
PULMÕES	2/5	1/5	1/5	0/5
BURSA DE FABRICIUS	0/5	0/5	0/5	0/5

^a Número de animais positivos.

^b Número total de animais infectados.

TABELA 3. Aspectos comparativos da presença de zoítas de *Toxoplasma gondii* em tecidos de codornas, no 14º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.

ÓRGÃOS	Nº de taquizoítas/ml			Controle
	Cepa Sero-47	Cepa 'P'		
	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁵	
FÍGADO	3 ^a /5 ^b	3/5	5/5	0/5
BAÇO	3/5	2/5	5/5	0/5
RINS	1/5	1/5	3/5	0/5
CORAÇÃO	1/5	1/5	2/5	0/5
CÉREBRO	0/5	0/5	0/5	0/5
PULMÕES	3/5	2/5	5/5	0/5
BURSA DE FABRICIUS	1/5	0/5	4/5	0/5

^a Número de animais positivos.

^b Número total de animais infectados.

TABELA 4. Aspectos comparativos da presença de zoítas de *Toxoplasma gondii* em tecidos de codornas, no 21º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.

ÓRGÃOS	Nº taquizoítas/ml		Controle
	Cepa Sero 47		
	10 ⁶	10 ⁴	
FÍGADO	0 ^a /5 ^b	1/5	0/5
BAÇO	0/5	0/5	0/5
RINS	0/5	0/5	0/5
CORAÇÃO	0/5	0/5	0/5
CÉREBRO	0/5	0/5	0/5
PULMÕES	1/5	0/5	0/5
BURSA DE FABRICIUS	2/5	1/5	0/5

^a Número de animais positivos.

^b Número total de animais infectados

TABELA 5. Aspectos comparativos da presença de cistos de *Toxoplasma gondii* em tecidos de codomas, no 70º dia após infecção experimental, com duas cepas distintas.

ÓRGÃOS	Nº de taquizoítas/ml			Controle
	Cepa Sero-47		Cepa 'P'	
	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁵	
FÍGADO	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5
BAÇO	0/5	0/5	0/5	0/5
RINS	0/5	0/5	0/5	0/5
CORAÇÃO	0/5	0/5	1/5	0/5
CÉREBRO	0/5	0/5	3/5	0/5
PULMÕES	0/5	0/5	0/5	0/5
BURSA DE FABRICIUS	0/5	0/5	0/5	0/5

^a Número de animais positivos.

^b Número total de animais infectados.

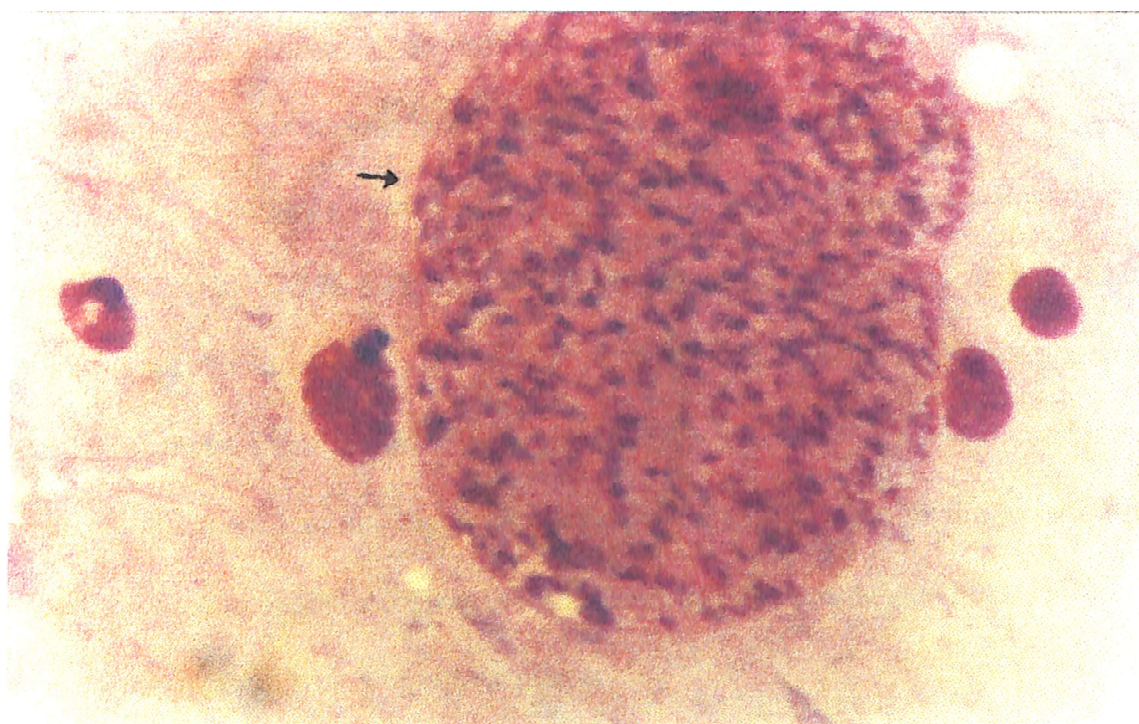


FIGURA 15. Codorna infectada com 10^5 tachyzoítas/ml da cepa 'P'. Cisto (→) bem diferenciado em estirado de cérebro Giemsa, 1000x.

4.6. Mensurações dos taquizoítas

Os taquizoítas observados nas impressões de órgãos de codornas infectadas com a cepa SERO-47, apareceram de maneira esparsa e menores do que os obtidos de codornas infectadas com a cepa 'P'. Nos órgãos das codornas infectadas com a cepa SERO-47 predominaram as formas pequenas e finas, enquanto na cepa 'P' existiam grande quantidade de formas largas (Tabela 6).

Na literatura, pouca ênfase tem sido dada ao tamanho dos taquizoítas. Somente MEDEIROS & LOPES (1996) enfatizaram a importância destes, quanto ao tamanho em relação ao órgão parasitado. Assim sendo, as formas oriundas da cepa 'P', foram semelhantes em tamanho aos mencionados pelos autores acima citados para as formas isoladas em camundongos provenientes de uma galinha de fundo de quintal, já as formas da cepa SERO-47 foram semelhantes às encontradas por FLAUSINO (1999) em codornas infectadas experimentalmente.

Desta maneira, pode-se enfatizar que as modificações acentuadas deste parasito podem ser observadas com maior clareza, quando estas passam de um vertebrado para outro (FLAUSINO, 1999), ou quando cepas diferentes estão sendo utilizadas em um mesmo hospedeiro, o que ocorreu neste trabalho, onde comparou-se formas oriundas de uma cepa acistogênica (SERO-47) e outra cistogênica (cepa 'P').

TABELA 6. Variação entre taquizoítas de *Toxoplasma gondii* de duas cepas distintas em codornas infectadas experimentalmente.

Medidas (μm) ¹	Cepa SERO-47	Cepa 'P'
Diâmetro maior	3,57 $\pm$ 0,44 ^a	5,81 $\pm$ 0,53
Diâmetro menor	1,73 $\pm$ 0,31 ^a	2,29 $\pm$ 0,29
Índice morfométrico	2,10 $\pm$ 0,18 ^b	2,58 $\pm$ 0,30

^a $P \leq 0,01$. Teste T de Student

^b $P \leq 0,05$. Teste T de Student

5. CONCLUSÕES

Após analisar os resultados deste trabalho pode-se concluir que:

1. Taquizoítas do *T. gondii* experimentalmente inoculados por via subcutânea, foram capazes de infectar codornas, causando alterações macroscópicas e microscópicas, sugerindo que esta espécie de hospedeiro pode ser utilizada como modelo experimental para este parasito em pesquisas biomédicas.

2. O desenvolvimento da infecção deu-se de modo diferenciado para as duas cepas, enquanto que na cepa SERO-47 nenhuma forma do *T. gondii* foi observada ou isolada aos 70° DAI, sugerindo um desaparecimento do parasito. Na cepa 'P' cistos foram observados, sinal de uma infecção crônica, com possibilidade de transmissão para outros hospedeiros, fazendo com que codornas tenham um elo de ligação na cadeia epidemiológica da toxoplasmose.

3. Os taquizoítas da cepa 'P', quando comparados aos da cepa SERO-47, em codornas infectadas experimentalmente, foram morfologicamente semelhantes, porém tiveram tamanhos diferentes ($p \leq 0,01$) quando esses foram comparados. Podendo estar relacionado à origem das cepas, visto que a cepa 'P' é considerada cistogênica e a SERO-47 até o presente momento não.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, G.R., MUNHOZ, A.D., MEDEIROS, S.M. de, FLAUSINO, W. & LOPES, C.W.G. 1996. Distribuição do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em órgãos de camundongos albinos inoculados com uma amostra acistogênica: Dados preliminares. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v. 3, p. 67-68.
- ARAÚJO, F.G., DUBEY, J.P. & REMINGTON, J.S. 1984. Antigenic similarity between the coccidian parasites *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi*. *J. Parasitol.*, v. 31, p. 145-147.
- ARAÚJO, F.G., WILLIAMS, D.M., GRUMET, F.C. & REMINGTON, J.S. 1976. Strain-dependent differences in murine susceptibility of *Toxoplasma*. *Infect. Immun.*, v. 13, p. 1528-1530.

- BHATIA, B.B., PANDEY, T.P. & PANDE, B.P. 1965. *Eimeria bateri* N. SP. from common grey quail (*Coturnix coturnix coturnix*). *Indian J. Microbiol.*, v. 5, p. 61-64.
- BIERING-SORENSEN, U. 1956. Fjerkraetoxoplasmose. Om forekomsten af endemisk optraedende toxoplasmose (toxoplasmosis gallinarum) i danske honsebesaetninger. *Nord. Vet. Med.*, v. 8, p. 140-164.
- BORN, W.C. 1951. Natürliche *Toxoplasma* infektionen beim Huhn. *Tierärztl. Umschau.*, v. 6, p. 27.
- BROWN, C. & McLEOD, R. 1994. Mechanisms of survival of mice during acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Parasitol. Today*, v. 10, p. 290-292.
- CHRISTIE, E. & DUBEY, J.P. 1977. Cross-immunity between *Hammondia* and *Toxoplasma* infections in mice and hamsters. *Infec. Immun.*, v. 18, p. 412-415.
- CORLISS, J.O. 1994. Na interim utilitarian ("user-friendly") hierarchical classification and characterization of the protists. *Acta Protozool.*, v. 33, p. 1-51.

- CORRADELLO, E.F.A. 1990. *Codorna: máquina produtora de carne e ovos: métodos para sua criação*. Ed. Ícone, São Paulo, 87p.
- COX, F.E.G. 1981. A new classification of the parasitic protozoa. *Protozool. Abst.*, v. 5, p. 9-14.
- DEROUIN, F. & GARIN, Y.J.F. 1991. *Toxoplasma gondii*: blood and tissue kinetics during acute and chronic infections in mice. *Exp. Parasitol.*, v. 73, p. 460-468.
- DESMONTS, G. & COUVREUR, J. 1974. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. *N. Engl. J. Med.*, v. 290, p. 1110-1116.
- DEVADA, K., ANANDAN, R. & DUBEY, J.P. 1998. Serological prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras, India. *J. Parasitol.*, v. 84, p. 621-622.
- DHILLON, A., THACKER, H.L. & WINTERFIELD, R.W. 1982. Toxoplasmosis in mynahs. *Avian Dis.*, v. 26, p. 445-449.
- 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*. Acad. Press, N.Y., v. 3, 563p.

DUBEY, J.P. 1986. Toxoplasmosis. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, v. 189, p. 166-170.

DUBEY, J.P. 1992. Isolation of *Toxoplasma gondii* from a naturally infected beef cow. *J. Parasitol.*, v. 78, p. 151-153.

DUBEY, J.P. 1996. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J. Parasitol.*, v. 82, p. 957-960.

DUBEY, J.P. 1998. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.*, v. 28, p. 1019-1024.

DUBEY, J.P. & BEATTIE, C.P. 1988. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, 275 p.

DUBEY, J.P. & FRENKEL, J.K. 1972. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozool.*, v. 19, p. 155-177.

DUBEY, J.P. & FRENKEL, J.K. 1976. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J. Protozool.*, v. 23, p. 537-546.

- DUBEY, J.P., GOODWIN, M.A., RUFF, M.D., KWOK, O.C.H., SHEN, S.K., WILKINS, G.C. & THULLIEZ, P. 1994. Experimental toxoplasmosis in japanese quail. *J. Vet. Diag. Invest.*, v. 6, p. 216-221.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. & SPEER, C.A. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 11, p. 267-299.
- DUBEY, J.P., RUFF, M.D., CAMARGO, M.E., SHEN, S.K., WILKINS, G.L., KWOK, O.C.H. & THULLIEZ, P. 1993. Serological and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am. J. Vet. Res.*, v. 54, p. 1668-1672.
- ERICHSEN, S. & HARBOE, A. 1953. Toxoplasmosis in chickens. I. An epidemic outbreak of toxoplasmosis in a chicken flock in south-eastern Norway. *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, v. 33, p. 56-71.
- FANKHAUSER, R. 1951. Toxoplasmose auch beim Huhn. *Schweizer. Arch. Tierheilk.*, v. 93, p. 823-828.

- FLAUSINO, W. 1999. *Infecção experimental em codornas (Cuturnix cuturnix japonica) com endozoítas de Toxoplasma gondii Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae)*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 92 p. (Tese de Doutorado)
- FRENKEL, J.K. 1956. Pathogenesis of toxoplasmosis and of infections with organisms resembling *Toxoplasma*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v. 64, p. 215-251.
- FRENKEL, J.K. 1972. Toxoplasmosis. Mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. *Curr. Top. Pathol.*, v. 54, p. 28-75.
- FRENKEL, J.K. 1973. *Toxoplasma* in and around us. *Bioscience*, v. 23, p. 343- 352.
- FRENKEL, J.K. 1977. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents with a reclassification of the cyst-forming isosporoid coccidia. *J. Parasitol.*, v. 63, p. 611-628.
- FRENKEL, J.K. 1986. La inmunidad en la toxoplasmosis. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, v. 100, p. 283-299.
- FRENKEL, J.K. 1988. Pathophysiology of toxoplasmosis. *Parasitol. Today*, v. 4, p. 273-278.

- FRENKEL, J.K. & ESCAJADILLO, A. 1987. Cyst rupture as a pathogenic mechanism of toxoplasmic encephalitis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 36, p. 517-522.
- FREYRE, A., DUBEY, J.P., SMITH, D.D. & FRENKEL, J.K. 1989. Oocysts-induced *Toxoplasma gondii* infections in cats. *J. Parasitol.*, v. 81, p. 1008-1010.
- GAZZINELI, R.T., ELTOUM, I., WYNN, T.A. & SHER, A. 1993. Acute cerebral toxoplasmosis is induced by *in vivo* neutralization of TNF- α and correlates with the down-regulated expression of inducible nitric oxide synthase and other markers of macrophage activation. *J. Immunol.*, v. 151, p. 3672-3681.
- GROSS, U. 1996. *Toxoplasma gondii*. *Cur. Top. Microbiol. Immunol.*, v. 219, 274 p.
- HEPDING, L. 1939. Ueber toxoplasmen (*Toxoplasma gallinarum* n. sp.) en der retina eines huhnes und über deren Beziehung zur Hühnerlähmung. *Z. Infaktkr. Haustiere.*, v. 55, p. 109-116.
- HOWERTH, E.W., RICH, G., DUBEY, J.P. & YOGASUNDRAM, K. 1991. Fatal toxoplasmosis in a red lory (*Eos bornea*). *Avian Dis.*, v. 35, p. 642-646.
- HOWERTH, E.W. & RODENROTH, N. 1985. Fatal systemic toxoplasmosis in a wild turkey. *J. Wild. Dis.*, v. 21, p. 446-449.

HUGHES, H.P.A. 1985. Toxoplasmosis - a neglected disease. *Parasitol. Today*, v. 1, p. 4144.

HUNTER, C.A., ROBERTS, C.W. & ALEXANDER, J. 1992. Kinetics of cytokine mRNA production in the brains of mice with progressive toxoplasmic encephalitis. *Eur. J. Immunol.*, v. 22, p. 2317-2322.

ICHILCIK, R. & AUSTIN, J.C. 1978. The japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as a laboratory animal. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, v. 49, p. 203-207.

ISRAELSKI, D.M. & REMINGTON, J.S. 1993. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. *Curr. Clin. Top. Infect. Dis.*, v. 13, p. 322-356.

JACOBS, L. & MELTON, M.L. 1966. Toxoplasmosis in chickens. *J. Parasitol.*, v. 52, p. 1158-1162.

JEWELL, M.L., FRENKEL, J.K., JOHSON, K.M., REED, V. & RUIZ, A. 1972. Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical Felidae. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 21, p. 512-517.

JONES, F.E., MELTON, M.L., LUNDE, M.N., EYLES, D.E. & JACOBS, L. 1959. Experimental toxoplasmosis in chickens. *J. Parasitol.*, v. 45, p. 31-37.

KANETO, C.N., COSTA, A.J., PAULILLO, A.C., MORAES, F.R., MURAKAMI, T.O. & MEIRELES, M.V. 1997. Experimental toxoplasmosis in broiler chicks. *Vet. Parasitol.*, v. 69, p. 203-210.

KINJO, T. 1961. Studies on experimental toxoplasmosis in chickens. *Jap. J. Vet. Res.*, v. 9, p. 125-126.

KOESTNER, A. & COLE, C.R. 1960. Neuropathology of canine toxoplasmosis. *Am. J. Vet. Res.*, v. 21, p. 831.

KRAHENBUHL, J.L. & REMINGTON, J.S. 1982. The immunology of *Toxoplasma* and toxoplasmosis. In: COHEN, S. & WARREN, K.S. *Immunology of parasitic infections*. Blackwell London, p. 356-421.

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., MERINFIELD, E.G., PAGE, F.C., POLJANSKY, G., SPRAGUE, V., VAVRA, J. & WALLACE, F.G. 1980. A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool.*, v. 27, p. 37-58.

- LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P. & BLAGBURN, B.L. 1991. *Toxoplasma gondii* infections in red-tailed hawks inoculated orally with tissue cysts. *J. Parasitol.*, v. 77, p. 322-325.
- LINDSAY, D.S., GASSER, R.B., HARRIGAN, K.E., MADILL, D.N. & BLAGBURN, B.L. 1995. Central nervous system toxoplasmosis in roller canaries. *Avian Dis.*, v. 39, p. 204-207.
- 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.*, v. 61, p. 115-117.
- LUFT, B.J. & REMINGTON, J.S. 1992. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clin. Infect. Dis.*, v. 15, p. 211-222.
- LUNDE, M.N. & JACOBS, L. 1965. Antigenic relationship of *Toxoplasma gondii* and *Besnoitia jellisoni*. *J. Parasitol.*, v. 51, p. 273-276.
- LUNDE, M.N. & JACOBS, L. 1983. Antigenic differences between endozoites and cystozoites of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.*, v. 69, p. 806-808.

- McLEOD, R., EISENHAUER, P., MACK, D., BROWN, C., FILICE, G. & SPITALNY, G. 1989. Immune responses associated with early survival after peroral infections with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.*, v. 142, p. 3247-3255.
- MEDEIROS, S.M. de & LOPES, C.W.G. 1996. Pleomorfismo de uma amostra acistogênica de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de uma galinha naturalmente infectada. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v. 18, p. 71-73.
- MEHLHORN, H. & FRENKEL, J.K. 1980. Ultrastructural comparisson of cysts and zoites of *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis muris*, and *Hammondia hammondi* in skeletal muscle of mice. *J. Parasitol.*, v. 66, p. 59-67.
- MIKAELIAN, I., DUBEY, J.P. & MARTINEAU, D. 1997. Severe hepatitis resulting from toxoplasmosis in a barred owl (*Strix varia*) from Québec, Canada. *Avian Dis.*, v. 41, p. 738-740.
- MILLER, N.I., FRENKEL, J.K. & DUBEY, J.P. 1972. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J. Parasitol.*, v. 58, p. 928-937.

- NÓBREGA, P., TRAPP, E. & GIOVANNONI, M. 1955. Toxoplasmose espontânea de galinha. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*, v. 22, p. 43-49.
- PARENTI, E., CERRUTI, S.S., TURILLI, C. & CORAZZOLA, S. 1986. Spontaneous toxoplasmosis in canaries (*Serinus canaria*) and other small passerine cage birds. *Avian Pathol.*, v. 15, p. 183-197.
- PEIXOTO, C.M.S. & LOPES, C.W.G. 1991. Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em galinhas naturalmente infectadas. *Arq. Univ. Rur. Rio de J.*, v. 13, p. 105-111.
- RUFF, M.D., FAGAN, J.M. & DICK, J.W. 1984. Pathogenicity of coccidia in japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Poult. Sci.*, v. 63, p. 55-60.
- RUIZ, A. & FRENKEL, J.K. 1980. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 29, p. 1161-1166.
- SCHULTE, F. 1954. Toxoplasmose-encephalites beim geflügel. *Deut. Tierärztl. Wschr.*, v. 61, p. 482-484.
- SMITH, D.D. 1981. The Sarcocystidae: *Sarcocystis*, *Frenkelia*, *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Hammondia* and *Cystoisospora*. *J. Protozool.*, v. 27, p. 37-58.

- SPARAPANI, G.C. 1950. La toxoplasmosi dei polli. *Pediatrics*, v. 58, p. 411-414.
- SUMYUEN, M.H., GARIN, Y.J.F. & DEROUIN, F. 1995. Early kinetics of *Toxoplasma gondii* infection in mice orally infected with cysts of an avirulent strain. *J. Parasitol.*, v. 81, p. 327-329.
- SUZUKI, Y., JOH, K., ORELLANA, M.A., CONLEY, F.K. & REMINGTON, J.S. 1991. A gene(s) within the H-2D region determines the development of toxoplasmic encephalitis in mice. *Immunol.*, v. 74, p. 732-739.
- SVAMBAEV, S.K. & UTEBAEVA, M.K. 1973. Coccidial infections of *Phasianus colchicus mongolicus* and *Coturnix coturnix* in Kazakhstan. *Akad. Nauk. Kazakhsk. SSR, s. Biol.* v. 6, p. 62-68.
- TSUNODA, K. & MURAKI, Y. 1971. A new coccidium of Japanese quails: *Eimeria uzura* sp. nov. *Jap. J. Vet. Sci.*, v. 33, p. 227-235.
- TSUTSUMI, Y. 1972. *Eimeria tsunodai* sp. nov. (protozoa: Eimeriidae) a caecal coccidium of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Jap. J. Vet. Sci.*, v. 34, p. 1-9.

- TURNER, G.V.S. 1978. Some aspects of the pathogenesis and comparative pathology of toxoplasmosis. *J. South Afr. Vet. Assoc.*, v. 49, p. 3-8.
- VICKERS, M.C., HARTLEY, W.J., MASON, R.W., DUBEY, J.P. & SCHOLLAM, L. 1992. Blindness associated with toxoplasmosis in canaries. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, v. 200, p. 1723-1725.
- WALLACE, G.D. 1973. Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 22, p. 456-464.
- WONG, S. & REMINGTON, J.S. 1994. Toxoplasmosis in pregnancy. *Clin. Infect. Dis.*, v. 18, p. 853-862.

APÊNDICE 1

MORFOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO DOS ENDOZOÍTAS EM CODORNAS (*CUTURNIX CUTURNIX JAPONICA*) DO *TOXOPLASMA GONDII* NICOLLE & MANCEUAX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)*

WALTER FLAUSINO¹,
ALEXANDRE DIAS MUNHOZ²,
GEORGE REGO ALBUQUERQUE²
CARLOS WILSON GOMES LOPES¹

ABSTRACT: FLAUSINO, W., A.D. MUNHOZ, ALBUQUERQUE, G.R. & C.W.G. LOPES. Morphology and distribution of endozoites in japanese quail (*Cuturnix cuturnix japonica*) by *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae). *Rev. Univ. Rural, sér. ciênc. vida*, 21 (Supl. 1): 00 - 00, 1999. Of 45 japanese quails with 30 days old, they were divided in three groups of 15 animals each, being a group infected with 10^3 endozoites by subcutaneous rote, 30 control animals divided in negative and per fed ones. Necropsies of the birds were done at 3, 7, 14, 21, 90 days after infection, when smears of the organs were prepared. Small, and slender forms with 3.50 ± 0.05 by $1.72 \pm 0.40 \mu\text{m}$, same times alone or in pair within vacuoles were observed in all organs examined, being spleen, and ovaries as more representative among them with 40% of forms of the parasite. When organs of japanese quails were inoculated intraperitoneally in albino mice, the endozoites got a crescent form with 6.13 ± 0.76 by $2.74 \pm 0.50 \mu\text{m}$ that were significant different when compared with those from japanese quails. Parasites were not observed in controls animals.

Key words: *Toxoplasma gondii* - japanese quail – endozoites – morphology – organs – distribution - experimental infection

* Sob os auspícios do CNPq.

¹Departamento de Parasitologia Animal, IB, UFRRJ, 23890-000 Seropédica, Rio de Janeiro. E-mail: flausino@ufrj.br.

²Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária. UFRRJ, 23890-000 Seropédica, Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

O *T. gondii* pode ser observado em vários tecidos dos vertebrados (Frenkel, 1972; Miller et al. 1972), exceto nas hemácias de mamíferos, suas formas podem ser vistas, também em líquidos orgânicos como saliva, leite, urina e transudato peritoneal. Este pode também, desenvolver todas as fases do seu ciclo biológico em células da mucosa intestinal de felinos (Jewell et al. 1972; Dubey, 1986; Frenkel, 1986), sendo sua fase final os oocistos eliminados nas fezes.

Desta maneira, pode apresentar diferentes aspectos morfológicos dependendo da área e do estágio evolutivo do parasita (Hirt et al. 1974; Amato Neto et al. 1982), onde segundo Frenkel (1973a) as principais formas evolutivas na transmissão seriam os oocistos com seus esporozoítas, cistos com seus bradizoítas (cistozoítas) e os endozoítas intra e extracelulares.

Endozoítas são estágios de rápida multiplicação em células do hospedeiro intermediário ou em células sistêmicas do hospedeiro definitivo (Frenkel, 1973b). Estes estágios podem ser chamados ainda de taquizoítas, endodizioítas, possivelmente dada a capacidade deste protozoário se multiplicar assexuadamente (Dubey & Beattie, 1988). Um grande número destes organismos podem ser chamados de clones, colônias terminais ou mesmo grupo, observados durante a forma aguda da infecção. De multiplicação rápida, porém, de sobrevivência curta fora da célula. Estas formas podem penetrar nas células do hospedeiro ativamente (Silva et al. 1982; Morisaki et al. 1995) ou são fagocitados (Nichols & O'Connor, 1981).

A utilização da codorna (*Coturnix coturnix japonica*) como modelo aviário em pesquisas biomédicas, foi comentada por Ichilcik & Austin (1978) e usada por Dubey et al. (1994a) quando verificaram a capacidade deste protozoário em causar danos a espécie.

Este trabalho tem como objetivo observar as possíveis modificações morfológicas e a distribuição destas no órgãos de codornas infectadas experimentalmente com taquizoítas de *T. gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste experimento foram utilizadas 45 codornas (*Coturnix coturnix japonica*) com aproximadamente 30 dias de idade, divididas em três grupos de 15 animais, sendo um grupo infectado, que recebeu 10^3 endozoítas do *T. gondii* por via subcutânea, um controle negativo e um alimentar. Este último foi utilizado para se ter certeza que a ração poderia causar modificações ao hospedeiro, sendo assim, recebia somente a quantidade de ração que o infectados recebiam diariamente.

Ao material infectante, obtido de camundongos albinos inoculados por via intraperitoneal, foi adicionado 1000 UI de penicilina G potássica e 100µg de estreptomicina. Este material foi diluído em solução salina a 0,9% até que a mistura obtida tivesse o equivalente a 10^3 endozoítos por ml de solução. Para tanto, foi utilizada a câmara de Neubauer para a contagem dos mesmos.

As codornas foram sacrificadas por deslocamento cervical no dias 3, 7, 14, 21 e 90 após infecção (DAI).

Para observação das formas endógenas do *T. gondii* foram feitos estiraços de cérebro, coração, pulmões, fígado, baço, ovários e rins, os quais foram secos ao ar, fixados em metanol por 3 minutos e corados pelo Giemsa, na proporção de 1ml de solução tampão pH 7,2 para três gotas do corante, por período de 30 minutos.

Além das observações das formas endógenas deste protozoário encontradas, estas foram mensuradas com auxílio de ocular micrométrica K-15X, acoplada a um microscópio óptico triocular Dialux-Leitz e objetiva de imersão.

As estruturas identificadas como endozoítas do *T. gondii* foram fotografadas com auxílio de equipamento fotográfico e câmera, acoplados a um microscópio triocular, modelo JENAPOL com filme elitechrome Kodak 135 mm, 100 ISO.

Para análise estatística dos dados utilizou-se o programa Graph Pad Instat, Copyright 1990-1994, GrafPad Software v2-05 a 9504225.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os endozoítas observados nas impressões de órgãos de codornas, além de caracterizarem-se pelo pleomorfismo, quando comparados aos obtidos em camundongos, apareceram de maneira esparsa e menores do que os observados em camundongos inoculados com material originário das codornas inoculadas experimentalmente (Tabela 1). Em todos os órgãos das codornas infectadas experimentalmente predominaram as formas pequenas e finas e bem coradas pelo Giemsa, predominando o formato lanceolado, com núcleo terminal ou com localização mediana no endozoíta, ou ovóide e núcleo central como o encontrado no ovário (Figura 1).

Entretanto, é importante mencionar que apesar de ter sido evidenciado as formas sistêmicas de *T. gondii* em codornas infectadas experimentalmente, também experimentalmente Dubey et al. (1994a) ou mesmo em outras aves (Howerth et al., 1991; Mason et al., 1991; Vickers et al. 1992; Dubey et al. 1993; Dubey et al., 1994b), não identificaram as possíveis variações morfológicas existentes.

Na literatura, pouca ênfase tem sido dada ao tamanho dos endozoítas encontrados. Somente Medeiros & Lopes (1996) enfatizaram a importância destes quanto ao tamanho, em relação ao órgão parasitado. Assim sendo, as formas obtidas por bioprova em camundongos (Figura 2) do material proveniente dos órgãos das codornas infectadas experimentalmente, foram semelhantes em tamanho aos mencionados pelos autores acima citados para as formas isoladas em camundongos provenientes de uma galinha de quintal.

Desta maneira, pode-se enfatizar que as modificações acentuadas deste parasito podem ser observadas com maior clareza, quando estas passam de um vertebrado para outro como foi utilizado neste trabalho, de codorna para Camundongo.

Os endozoítas foram encontrados em todos órgãos analisados, onde no 3º DAÍ foram evidenciados nos esfregaços de fígado e cérebro. No 7º DAÍ nos pulmões,

baço e ovário, no 14^o DAÍ na bursa de Fabricius e rins e coração no 21^oDAÍ. Observou-se que os órgãos de maior representatividade foram o baço e os ovários (Tabela 2). Tais informações não foram mencionadas por Dubey et al. (1994a) em codornas infectadas experimentalmente, em codornas da Virgínia (*Colinus virginianus*) em Dubey et al. (1993) ou mesmo em perdizes (*Alectoris graeca*) por Dubey et al. (1995).

LITERATURA CITADA

- AMATO NETO, V., CAMPOS, R., BARUZZI, R.G. & DUARTE, M.I.S. *Toxoplasmose*. Monografias Médicas 10^o vol., Ed. Sarvier, São Paulo, 159 p., 1982.
- By the protozoon *Toxoplasma gondii*: new evidence for active invasion and phagocytosis. *Lab. Invest.*, 44; 324-335, 1981.
- DUBEY, J.P. & BEATTIE, C.P. *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press. Boca Raton, 275p., 1988.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 189: 166-170, 1986.
- DUBEY, J.P., GOODWIN, M.A., RUFF, M.D., KWOK, O.C.H., SHEN, S.K., WILKINS, G.C. & THULLIEZ, P.. Experimental toxoplasmosis in japanese quail. *J. Vet. Diag. Invest.*, 6: 216-221, 1994a.
- DUBEY, J.P., RUFF, M.D., KWOK, O.C.H., SHEN, S.K., WILKINS, G.C. & THULLIEZ, P. Experimental toxoplasmosis in bowwhite quail (*Colinus virginianus*). *J. Parasitol.*, 79: 935-939, 1993.
- DUBEY, J.P., RUFF, M.D., WILKINS, G.C., SHEN, S.K., KWOK, O.C.H., WILKINS, G.C. & THULLIEZ, P. Experimental toxoplasmosis in pheasants (*Phasianus colchicus*) *J. Wildlife Dis.*, 30: 40-45, 1994b.
- DUBEY, J.P., WILKINS, G.C., RUFF, M.D., SHEN, S.K., KWOK, O.C.H., WILKINS, G.C. & THULLIEZ, P. Experimental toxoplasmosis in chukar partridges (*Alectoris graeca*). *Avian Pathol.* 24: 95-107, 1995.

- FRENKEL, J.K. La inmunidad en la toxoplasmosis. *Bol. Of. Sanit. Panamer.*, 100: 283-299, 1986.
- FRENKEL, J.K. *Toxoplasma* in and around us. *Bioscience*, 23: 343-352, 1973a.
- FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis. Mecanisms of infection, laboratory diagnosis and manangement. *Current Topic. Pathol.*, 54: 28-75, 1972.
- FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis: parasite life cycle, pathology, and immunity. In: HAMMOND, D.M. & LONG, P.L. *The coccidia*. Univ. Park Press, Baltimore, p. 343-410, 1973b.
- HIRT, J., ALBESI, E.J. DiBARTOLO, I., JÜRGENS, E.E., MONTEVERDE, D.A., MORGENFELD, M.C. & SOMOZA, M.J. *Toxoplasmosis*. Ed. El Ateneo, Buenos Aires, 234p., 1974.
- HOWERTH, E.W., RICH, G., DUBEY, J.P. & YOGASUNDRAM, K. Fatal toxoplasmosis in a red lory (*Eos bornea*). *Avian Dis.*, 35: 642-646, 1991.
- ICHILCIK, R. & AUSTIN, J.C. The japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as a laboratory animal. *J. S. Afr. Vet. Ass.*, 49: 203-207, 1978.
- JEWELL, M.L., FRENKEL, J.K., JOHSON, K.M., REED, V. & RUIZ, A. Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical Felidae. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21: 512-517, 1972.
- MASON, R.W., HARTLEY, W.J. & DUBEY, J.P. Lethal toxoplasmosis in a little penguin (*Eudyptula minor*). *J. Parasitol.*, 77: 328, 1991.
- MEDEIROS, S.M. de & LOPES, C.W.G. Pleomorfismo de uma amostra acistogênica de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de uma galinha naturalmente infectada. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 18: 71-73, 1996.
- MILLER, N.I., FRENKEL, J.K. & DUBEY, J.P. oral infections iwth *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J. Parasitol.*, 58: 928-937, 1972.
- MORISAKI, J.H., HEUSER, J.E. & SIBLEY, L.D. Invasion of *Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell: new evidence for active invasion and phagocytosis. *Lab. Invest.*, 44: 324-335, 1981.

- NICHOLS, B.A. & O'CONNOR, G.R.. Penetration of mouse peritoneal macrophages
- SILVA, S.R.L., MEIRELLES, S.S. & SOUZA, W. The mechanism of entry of *Toxoplasma gondii* into vertebrate cells. *J. Submicro. Cytol.*, 14: 471-482, 1982.
- SOUZA, W.J.S DE. *Aspectos soepidemiológicos da toxoplasmose em escolares no Rio de Janeiro*. Tese de mestrado. UFRRJ, Itaguaí, 79 p., 1986.
- VICKERS, M.C., W.J. HARTLEY, R.W. MASON, J.P. DUBEY, & L. SCHOLLAM. Blindness associated with toxoplasmosis in canaries. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 200: 1723-1725, 1992.

APÊNDICE 2

INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM CODORNAS (*CUTURNIX CUTURNIX JAPONICA*) COM *TOXOPLASMA GONDII* NICOLLE & MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)*

WALTER FLAUSINO¹

GEORGE REGO ALBUQUERQUE²

ALEXANDRE DIAS MUNHOZ²

CARLOS WILSON GOMES LOPES¹

ABSTRACT: Flausino, F., G.R. Albuquerque, A.D. & C.W.G. Lopes. Experimental infection in japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) by *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceuax, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae). *Rev. Univ. Rural, sér. ciênc. vida*, 21 (Supl. 1): 00-00, 1999. Of 45 japanese quails with approximately 30 days old were used in a experimental infections where 30 quails were divided in 15 negative controls and 15 per fed ones. The last 15 quails were inoculated subcutaneously with 10^3 taquizoites of *Toxoplasma gondii*. After that, 63 young female of albino mice with 20 ± 2 g were used as bioassay. In general, systemic forms of the parasite were difficult to indentified in tissues from quails inoculated experimentally, when results were based on Giemsa stained smears; however, infective forms of *T. gondii* were isolated from quails organs considered negative previously. Carcasses and spleen changes were verified after increasing body temperature, without any behaviour differences on infected animals. No clinical signs nor apparent lesions were observed in control animals.

Key words: *Toxoplasma gondii* - experimental infection - japanese quails

*Sob os auspícios do CNPq

¹Departamento de Parasitologia Animal (DPA). IB. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) 23890-000 Seropédica, Rio de Janeiro. E.mail: flausino@ufrrj.br

²Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária, UFRRJ, 23890-000 Seropédica, Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO

A importância epidemiológica das aves que vivem próximo as habitações humanas têm sido motivo de avaliação, por terem hábitos de se alimentar de grãos e insetos presentes em locais onde, muitas vezes, gatos enterram sua fezes positivas para oocistos de *T. gondii*. Sendo assim, aves de criação rústicas podem ser apontadas como fonte de infecção do *T. gondii*, apesar de se manterem clinicamente saudáveis (FOSTER *et alii*, 1969; PEIXOTO & LOPES, 1995).

Várias espécies de coccídios tem sido descritos em codornas. As espécies do gênero *Eimeria* comumente observadas nestas aves são: *E. uzura*, *E. tsunodai* e *E. taldykurganica*, os animais jovens foram mais sensíveis do que os adultos (Ruff *et al.* 1984).

A utilização da codorna como modelo aviário em pesquisas biomédicas, já foi comentada por Ichilcik & Austin (1978), facilitando com isso a utilização desta ave de fácil manejo em experimentação com *T. gondii*, já observada por alguns aspectos por Dubey *et al.* (1994 a), quando verificou a capacidade deste protozoário causar danos para a espécie.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento de codornas infectadas experimentalmente com endozoítas de *Toxoplasma gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 45 codornas (*Coturnix coturnix japonica*) com aproximadamente 30 dias de idade, divididas em três grupos de 15 animais, sendo um grupo infectado, que recebeu 10^3 endozoítas de *T. gondii* por via subcutânea; um controle negativo e um controle alimentar, que recebia a mesma quantidade ração que o infectado durante o experimento.

Ao material infectante obtido foi adicionado 1000 UI de penicilina G potássica e 100 µg de estreptomicina. Este material foi diluído sucessivamente em solução

salina a 0,9%, até que a mistura obtida tivesse o equivalente a 10^3 taquizoítas por ml de solução. Para tanto, foi utilizada uma câmara de Neubauer para contagem dos parasitos.

Cada ave foi examinada individualmente e diariamente até o final do experimento, que consistiu na observação da temperatura cloacal, ganho de peso, consumo de ração e sinais clínicos condizentes com a infecção. Nos dias 3, 7, 14, 21 e 90 após infecção (DAI) procedeu-se o sacrifício de três animais de cada grupo, a cada data, por deslocamento cervical, em seguida, a carcaça e os órgãos: fígado, baço, coração e pulmões foram pesados.

Para verificar o estabelecimento da fase crônica da infecção, procedeu-se inoculações de macerados de cérebro, coração, pulmões, baço, fígado e rins de três codornas infectadas ao 90^o dia após infecção (DAÍ) em três camundongos albinos (*Mus musculus*) por órgão, perfazendo desta maneira um total de 162 animais.

Para análise estatística dos dados utilizou-se o programa Graph Pad Instattm, Copyright 1990-1994, Graf Pad Software v2-05 a 9504225.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Durante todo o período experimental, num total de 90 DAÍ, não se observou nenhuma alteração no comportamento, consumo de ração dos animais, mesmo dos inoculados com *T. gondii*, com exceção da temperatura que se elevou nos animais infectados do primeiro ao 14^o DAÍ em relação ao controle negativo e do 6 ao 11^o DAÍ em relação ao controle alimentar. No entanto, Dubey *et al.* (1994) que ao trabalhar com codornas infectadas com oocistos esporulados do mesmo parasito, observaram que quando se usou a cepa ME-49, esta foi responsável por desenvolver pouca reação à infecção, o que não foi relatado para a cepa GT-1, que foi altamente patogênica para a espécie estudada. Desta maneira, o aparecimento e desenvolvimento de alterações no comportamento dos animais

podem estar dependentes da via de inoculação, estágio do parasito e do hospedeiro vertebrado utilizado.

No isolamento do *T. gondii* foi possível encontrar formas endógenas deste parasito em camundongos albinos. O material oriundo de cérebro e fígado das três codornas com 90º DAI, foi positivo e fatal para os camundongos 10 dias após a inoculação intraperitoneal. Pulmões, coração e baço das codornas não foram capazes de induzir a morte dos camundongos inoculados, porém formas do parasito foram encontrados nos esfregaços de órgãos corados pelo Giemsa ao 30 DAÍ. Diferente de rins e ovário, onde não se isolou formas do parasito (Tab. 1).

Desta maneira, observou-se que formas endógenas do *T. gondii*, puderam permanecer viáveis por longo tempo em diversos órgãos. Esta distribuição pode ser verificada mesmo quando se usou cepas cistogênicas, como no caso da GT-1 por Dubey *et al.* (1980), que observaram a morte de camundongos inoculados antes do aparecimento dos cistos, mesmo naqueles que morreram entre o 21 e 30º DAÍ. Por conseguinte, pode-se concluir que codornas que receberam doses de 10^3 taquizoítas, puderam permanecer por 90 dias com formas infectantes do *T. gondii*, sem contudo, se encontrar cistos típicos deste parasito não só nos esfregaços dos órgãos das codornas como também nos dos camundongos usados como bioprova neste experimento. Demonstrando desta maneira, a possibilidade de se utilizar estas aves como modelo aviário em pesquisas biomédicas, conforme o já mencionado por Ichilcik & Austin (1978).

Não houve, durante o experimento, alteração no ganho de peso dos animais, contudo em relação a carcaça verificou-se variação significativa no 3 e no 14º DAÍ, quando se comparou os infectados aos controles (Tab. 2). Quanto ao peso dos órgãos, somente o baço teve alteração durante todo experimento, porém só foi significativo no 3º DAÍ (Tab. 3).

Alterações semelhantes a esta, já foram assinaladas em infecções experimentais com oocistos esporulados de *Cystoispora felis* por Loss & Lopes (1992) que já chamava atenção sobre a queda no ganho de peso corporal em camundongos albinos e por Freire (1993) no peso das carcaças, e aumento do

fígado e baço também nesta espécie de vertebrado. As mesmas alterações foram observadas por Costa (1993) em coelhos inoculados experimentalmente com oocistos desta mesma espécie.

LITERATURA CITADA

- COSTA, P.S. DA *Infecção experimental por Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae): inspeção, avaliação do parasitismo e patologia em coelhos do tipo carne. Tese de Doutorado. UFRRJ, Itaguaí, 132p., 1993.
- DUBEY, J.P., M.A. GOODWIN, M.A., RUFF, M.D., KWOK, O.C.H., SHEN, S.K., WILKINS, G.L. & THULLIEZ, P. Experimental toxoplasmosis in japanese quail. *J. Vet. Diag. Invest.*, 6: 216-221, 1994.
- FOSTER, B.G., FORREST, R.G. & BLANCO, J.K. Isolation of *Toxoplasma gondii* from naturally infected chickens. *Texas J. Sc.*, 20:323-328, 1969.
- FREIRE, R.B. *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae): caracterização, infecção experimental e resposta imune em camundongos albinos. Tese de Doutorado. UFRRJ, 109p, 1993.
- ICHILCIK, R. & AUSTIN, J.C. The japanese quail (*Cuturnix cuturnix japonica*) as a laboratory animal. *J. S. Afr. Vet. Ass.*, 49: 203-207, 1978.
- LOSS, Z.G. & LOPES, C.W.G. efeito da infecção experimental por *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) no ganho de peso de camundongos. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 15:109-111, 1992.
- PEIXOTO, C.M.S. & LOPES, C.W.G. Patogenicidade para camundongos do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de galinhas naturalmente infectadas. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4:37-41, 1995.
- RUFF, M.D., FAGAN, J.M. & DICK, J.W. Pathogenicity of coccidia in japanese quail (*Cuturnix cuturnix japonica*). *Poult. Sci.*, 63: 55-60, 1984.