

LESÕES EM COELHOS INOCULADOS COM *Toxoplasma gondii* NICOLLE & MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE)*

Lesions in rabbits due to *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae)

ALBUQUERQUE, G.R.¹, SOUZA PINTO, A.R.¹, OLIVEIRA, F.C.R.², MUNHOZ, A.D.³ & LOPES, C.W.G.⁴

(1) Discente de Doutorado do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRuralRJ, george@ufrj.br; (2) Laboratório de Sanidade Animal, CCTA, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ; (3) Professor Assistente, DCAA, UESC, Doutorando do CPGCV da UFRuralRJ; (4) Departamento de Parasitologia Animal, IV/UFRuralRJ, lopescw@ufrj.br

SUMMARY: Fifteen females of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) White of New Zealand breed weighing $2,468 \pm 0,349$ Kg, were divided in three groups of five animals. The first group was inoculated with 10^6 tachyzoites/mL, the second received 10^3 tachyzoites /mL subcutaneously of the SERO 47 strain of *T. gondii*, and the third received saline solution 0,9%, all in the enter scapular area. All infected animals were anesthetized and necropsied according to the clinical picture. The organs were separately weighted and the macroscopic aspects were investigate. Fragments were removed for histopatology, and impressions smears stained by Giemsa were done for observing endogenous stages of *T. gondii*. The animals of the first group had hypertrophy of the liver, spleen, lungs and kidneys in relation to the controls animals. The second group hepatomegaly and splenomegaly were present. Microscopically, areas of focal or diffuse, characterized by mononuclear cells infiltration, mainly in the liver and lungs. Endogenous stages of *T. gondii* were observed in all smears of the infected animals.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii*, rabbits, pathology, tachyzoites, SERO-47 strain.

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii tem sido observado na maioria dos vertebrados de sangue quente, causando doença em animais e no homem (DUBEY, 1977; DUBEY & BEATTIE, 1988). Infecções adquiridas durante a gestação são importantes causas de abortos espontâneos nos animais domésticos (DUBEY & BEATTIE, 1988) e de doenças congênitas em humanos (DESMONTS & COUVREUR, 1974; WONG & REMINGTON, 1994).

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 em morte (DEROUIN & GARIN, 1991). A causa *mortis* durante uma infecção aguda é relatada por alta parasitemia e subsequente inflamação e necrose principalmente nos pulmões, fígado e sistema nervo-

so central (SNC) (McLEOD et al., 1989; DEROUIN & GARIN, 1991). De acordo com ARAUJO et al. (1976) a parasitemia e mortalidade são proporcionais ao tamanho do inóculo, mas o estágio do parasita e a via de inoculação têm grande influência no resultado da infecção em camundongos (BROWN & McLEOD, 1994).

A presença do *T. gondii* foi relatada pela primeira vez em coelhos de laboratório por SPLENDORE (1908) no Brasil, quase ao mesmo tempo em que foi identificado no gundi, roedor africano, do qual o seu nome deriva. Desde então, infecções naturais do *T. gondii* em coelhos domésticos e selvagens têm sido descritas. No Brasil, NOBREGA et al. (1952) relataram um surto da doença que causou óbito em 319 coelhos num plantel de 685 animais no Instituto Biológico em São Paulo, mais tarde, SANTOS et al. (1968) assinalaram a doença, oriunda de infecção natural, em seis coelhos no estado do Rio de Janeiro. A toxoplasmose, também, tem sido descrita em infecções naturais em coelhos nos Estados Unidos (DUBEY et al., 1992; LELAND et al., 1992).

* Sob os auspícios do CNPq.

Este trabalho tem como objetivo assinalar as alterações macro e microscópicas em coelhos infectados experimentalmente com taquizoítas do *T. gondii* da cepa SERO-47.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nas instalações da Estação de Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal, IV/UFRuralRJ.

Foram utilizados 15 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) fêmeas, da raça Branca Nova Zelândia, pesando $2468 \pm 0,349$ g, oriundos da cunicultura do Instituto de Zootecnia da UFRuralRJ. Estes foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo ração comercial e água *ad libitum*.

Utilizou-se taquizoítas da cepa SERO-47, isolada de galinhas de fundo de quintal por MEDEIROS & LOPES (1996) e mantida em ratazanas no Laboratório de Coccídios e Coccidioses da UFRuralRJ. Após a obtenção e contagem do parasito em hemocítômetro, as soluções finais para inoculação tiveram 10^6 e 10^3 taquizoítas/mL.

Os coelhos foram divididos em 3 grupos (I, II e III) de 5 animais cada. O grupo I recebeu um mililitro de solução contendo 10^6 taquizoítas, o II recebeu um mililitro contendo 10^3 taquizoítas e o III recebeu um mililitro de solução salina a 0,9%, todos os grupos foram inoculados por via subcutânea na altura da cernelha.

Quando gravemente acometido o animal era anestesiado e sacrificado, sendo os órgãos pesados e avaliados quanto aos aspectos macroscópicos. Após, fragmentos dos órgãos foram retirados para histopatologia, sendo fixados em formol a 10%, processados e corados pela Hematoxilina-eosina.

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

Para comparação do peso dos órgãos foi utilizado o peso relativo, isto é, o peso do órgão dividido pelo peso vivo do animal e o resultado, expresso em porcentagem.

Os taquizoítas foram mensurados com o auxílio de microscópio tri-ocular Jenaval com ocular micrométrica GF - P16X.

Os animais do grupo controle permaneceram saudáveis e foram sacrificados no 12º DAI, sendo que para seus órgãos foram feitos os mesmos procedimentos que foram realizados para os infectados.

Para a análise estatística foi utilizado o teste Tukey, com nível de significância de 95%, com auxílio do programa Graph

Pad Instat™, Copyright 1990-1994, Graf Pad Software v2-05 a 9504225.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alterações macroscópicas

À necropsia foram observadas alterações nos órgãos dos animais infectados. Todos os coelhos do grupo I e II tiveram hepatomegalia, sendo esses achados semelhantes aos descritos por DUBEY et al. (1992), porém estes autores assinalaram a presença de manchas brancas, aspecto este, não observado nos coelhos deste experimento. Todavia, HULDT (1966), não encontrou alterações nos fígados da maioria dos coelhos infectados com 5×10^5 taquizoítas do mesmo parasito.

O baço estava aumentado com bordos arredondados, mas não foram vistos manchas esbranquiçadas como as descritas por SANTOS et al. (1968) e nem áreas de necrose como as relatadas por DUBEY et al. (1992) em uma infecção natural por *T. gondii* em coelhos. Observou-se ainda, linfadenomegalia em apenas um dos animais do grupo I, semelhante ao observado por HULDT (1966). Os pulmões estavam congestos, achado este semelhante ao já relatado por SANTOS et al. (1968) para coelhos com infecção natural.

Esses achados foram confirmados com o auxílio da comparação dos pesos dos órgãos (Figura 1 e 2). Nos animais do grupo I, foram observados aumento do peso dos pulmões, fígado, baço e rins ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo III. Os animais do grupo II tiveram apenas hepatomegalia e esplenomegalia ($p < 0,05$). Esses dados foram semelhantes aos apresentados por MEDEIROS & LOPES (1996) e FLAUSINO et al. (2000) onde observaram esplenomegalia em camundongos (*Mus musculus*) e em codornas (*Coturnix japonica*) respectivamente, com a mesma cepa utilizada. Previamente, PEIXOTO E LOPES (1995) observaram

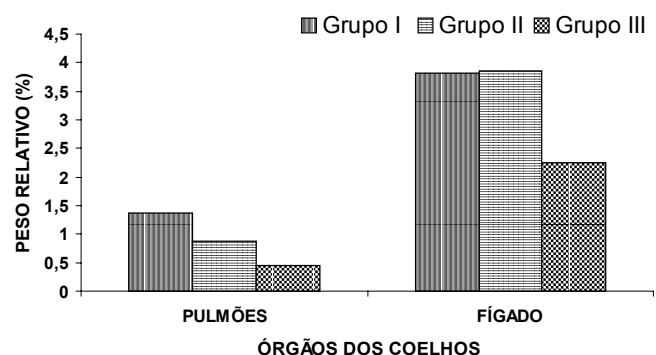


Figura 1. Média dos pesos relativos dos pulmões e fígados de coelhos inoculados com 10^6 (Grupo I), 10^3 (Grupo II) taquizoítas/ml da cepa SERO-47 do *T. gondii* e grupo controle (Grupo III).

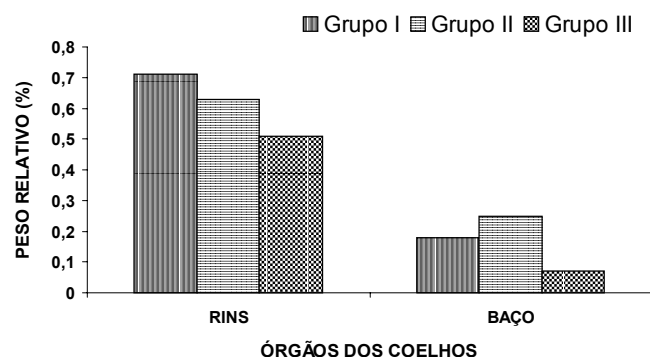


Figura 2. Média dos pesos relativos dos rins e baços de coelhos inoculados com 10^6 (Grupo I), 10^3 (Grupo II) taquizoítas/ml da cepa SERO-47 do *T. gondii* e grupo controle (Grupo III).

hepatomegalia e aumento dos pulmões em camundongos infectados com uma cepa do *T. gondii* isolada também de galinhas de fundo de quintal.

Histopatologia

O fígado foi o órgão mais afetado, onde se observou um intenso infiltrado inflamatório com predominância de linfócitos, dispersos por todo o parênquima, embora algumas áreas focais tivessem um infiltrado misto composto de heterófilos, macrófagos e linfócitos. Em algumas áreas, o infiltrado era focal e em torno dos vasos sanguíneos, sendo intenso no espaço porta. Foi ainda observada intensa vacuolização no citoplasma dos hepatócitos, semelhante à degeneração gordurosa. Estas observações foram semelhantes nos 10 animais infectados, independente da dose utilizada (Figura 3).

As lesões pulmonares foram constantes e caracterizavam-se por pneumonia intersticial difusa, variando de mo-

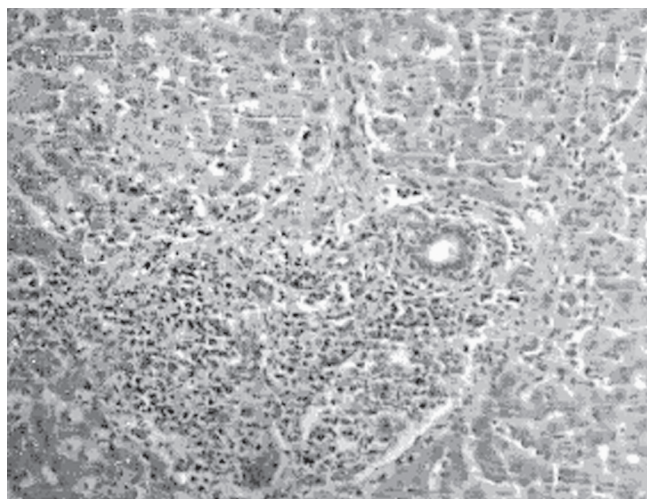


Figura 3. Fígado de coelho infectado com 10^6 taquizoítas de *Toxoplasma gondii*. Infiltrado inflamatório mononuclear envolvendo espaço porta. H.E., 100x

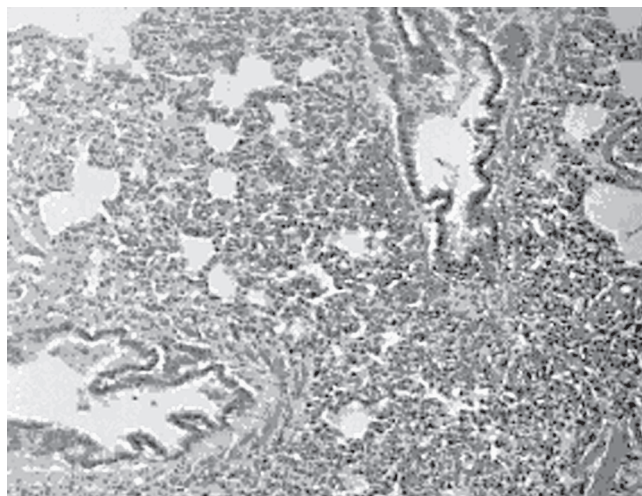


Figura 4. Pulmão de coelho infectado com 10^6 taquizoítas de *Toxoplasma gondii*. Pneumonia intersticial. H.E., 100x.

derado a intenso, o infiltrado inflamatório era constituído por células mononucleares, com predominância de linfócitos (Figura 4).

Com relação aos rins, apenas um coelho do grupo I teve discreto infiltrado inflamatório localizado na pelve e córtex renal.

Os linfonodos estavam hipoplásicos e o tecido subcutâneo da região interescapular, no local da inoculação dos taquizoítas, caracterizava-se por necrose e reação granulomatosa.

O coração, musculatura esquelética, olhos, pâncreas e cérebro não evidenciaram lesões, a exceção do baço que estava congestionado.

As alterações observadas neste experimento foram semelhantes às encontradas em coelhos por GUSTAFSSON et al. (1997) onde estes observaram lesões múltiplas, distribuídas de forma randomizada, com infiltração de células linfohistiocitárias no fígado, sendo mais numerosas nos sinusóides e espaço porta; enquanto, DUBEY et al. (1992), em uma infecção natural, encontraram pequenos focos de necrose no fígado e infiltrado intersticial no pulmão caracterizado por macrófagos epitelióides. Quanto ao baço, foram observadas grandes áreas de necrose e o miocárdio com pequenos focos de necrose multifocal. Aspectos estes não observados neste experimento. LELAND et al. (1992), também com animais infectados naturalmente, relataram necrose multifocal e inflamação granulomatosa no fígado, pulmões e baço. Em outros órgãos, estes autores não observaram nenhuma outra lesão, inclusive no cérebro. HULDT (1996) também não encontrou alterações no coração, rim e cérebro, porém, ao contrário do que se viu neste experimento, não se acharam lesões significativas no fígado dos animais infectados, a exceção de dois dos animais que tiveram necrose multifocal.

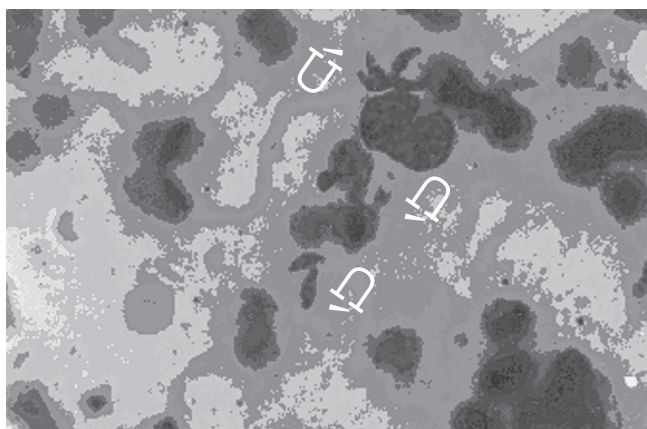


Figura 5. Grupo de taquizoítas em imprint de pulmão de coelho infectado com 10^5 taquizoítas de *Toxoplasma gondii*. (◻) Giemsa, 200x.

Tabela 1. Presença de taquizoítas do *Toxoplasma gondii* em impressões de órgãos de coelhos infectados experimentalmente com a cepa SERO-47.

Órgãos	Infectados		Controle
	10^6 /mL	10^3 /mL	
Fígado	5 ^a /5 ^b	5/5	0/5
Baço	3/5	2/5	0/5
Rins	5/5	2/5	0/5
Coração	1/5	1/5	0/5
Cérebro	4/5	1/5	0/5
Pulmões	5/5	2/5	0/5
Linfonodos	5/5	5/5	0/5

^a Número de animais positivos.

^b Número total de animais infectados.

Impressões de Órgãos

Os taquizoítas de *T. gondii* (Figura 5) foram observados em diversos órgãos dos coelhos infectados e mais facilmente nos esfregaços dos inoculados com 10^6 taquizoítas/mL, conforme Tabela 1.

Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por ALBUQUERQUE et al. (1996) e ALBUQUERQUE et al. (2001) que encontraram taquizoítas no coração, baço, rins, pulmões e fígado de camundongos e codornas, respectivamente. Ambas as infecções foram feitas com a cepa SERO-47 do *T. gondii*. Da mesma forma, HULDT (1966) observou formas intra ou extracelularmente do *T. gondii* no fígado, pulmões, rins, cérebro, baço e linfonodos na maioria dos coelhos infectados experimentalmente.

SUMÁRIO

Quinze coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) fêmeas da raça Branca da Nova Zelândia pesando $2,468 \pm 0,349$ Kg foram

divididos em três grupos de cinco animais. O primeiro grupo foi inoculado com 10^6 taquizoítas/mL, o segundo recebeu 10^3 taquizoítas/mL da cepa SERO 47 do *Toxoplasma gondii*, e o terceiro solução salina a 0,9% todos por via subcutânea e na região interescapular. Todos animais infectados foram anestesiados e necropsiados quando gravemente acometidos, sendo os órgãos pesados isoladamente e avaliados quanto ao aspecto macroscópico. Fragmentos foram retirados para histopatologia, e feitas impressões em lâminas para pesquisa das formas endógenas do *T. gondii*. Nos animais do primeiro grupo foi identificado hipertrofia do fígado, baço, pulmões e rins em relação ao dos animais controles. Os do segundo tiveram apenas hepatomegalia e esplenomegalia. Microscopicamente foi observada reação inflamatória de natureza focal ou difusa, caracterizada por infiltrações de células mononucleares, principalmente no fígado e pulmões. Foi possível visualizar formas do *T. gondii* nas impressões de todos os órgãos quando corados pelo Giemsa.

PALAVRAS-CHAVE: *Toxoplasma gondii*, coelhos, patologia, taquizoítas, cepa SERO-47.

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.
- ALBUQUERQUE, G.R., MUNHOZ, A.D., OLIVEIRA F.C.R. & LOPES, C.W.G. 2001. Comportamento biológico das cepas "P" e SERO 47 do *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em uma infecção experimental em codornas (*Coturnix japonica*). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 10, p. 55-59.
- 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.
- BROWN, C. & McLEOD, R. 1994. Mechanisms of survival of mice during acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Parasitol. Today*, v. 10, p. 290-292.
- 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.

- 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, 563 p.
- DUBEY, J.P. & BEATTIE, C.P. 1988. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, 275 p.
- DUBEY, J.P.; BROWN, C.A.; CARPENTER, J.L. & MOORE, J.J. 1992. Fatal toxoplasmosis in domestic rabbits in the USA. *Vet. Parasitol.*, v. 44, p. 305-309.
- FLAUSINO, W.; ALBUQUERQUE, G.R.; MUNHOZ, A.D. & LOPES, C.W.L. 2000. *Infecção experimental em codornas (Cuturnix cuturnix japonica) com Toxoplasma gondii*. *Rev. Univ. Rural, Ciênc. Vida*, v. 22, p. 91-94.
- GUSTAFSSON, K.; UGLLA, A. & JÄRPLID, B. 1997. *Toxoplasma gondii* infection in the mountain hare (*Lepus timidus*) and domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). I. Pathology. *J. Comp. Path.*, v. 117, p. 351-360.
- HULDT, G. 1966. Studies of the multiplication and spread of *Toxoplasma* in experimentally infected rabbits. In, Experimental toxoplasmosis. *Acta Path. Microbiol. Scan.*, v. 67, p. 401-423.
- LELAND, M.M.; HUBBARD, G.B. & DUBEY, J.P. 1992. Clinical toxoplasmosis in domestic rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, v. 42, p. 318-319.
- 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.
- NOBREGA, P.; TRAPP, E.E. & GIOVANNONI, M. 1952. Toxoplasmosse epizootica em coelhos. I, Ação da sulfadiazina. *Ciênc. Cult.* v. 4, p. 35-44.
- PEIXOTO, C.M.S. & LOPES, C.W.G. 1995. Patogenicidade para camundongos do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de galinhas naturalmente infectadas. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 4, p. 37-41.
- SANTOS, J.A.; NOVLOSKI, G.; DA COSTA PEREIRA, E.F. & LANGENEGGER DE REZENDE, A.M. 1968. Estudo sobre a incidência e as lesões histopatológicas da toxoplasmosse em mamíferos domésticos (cães e coelhos) no Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 3, p. 275-283.
- SPLENDRE, A. 1908. Un nuovo protozoa parasita dei gonigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia chericorda in multiponti il kala-azar dell uomo. *Rev. Soc. Sci.* v. 3, p. 109-112.
- WONG, S. & REMINGTON, J.S. 1994. Toxoplasmosis in pregnancy. *Clin. Infect. Dis.*, v. 18, p. 853-862.