

ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE CODORNAS (*Coturnix japonica*) COM TAQUIZOÍTAS DE *Toxoplasma gondii* (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE).*

Pathological alterations in the japanese quails (*Coturnix japonica*) by experimental infection with *Toxoplasma gondii* tachyzoites (Apicomplexa: Toxoplasmatinae)

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

(1) Discente de Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinária / UFRuralRJ, george@ufrj.br.

(2) Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC, BA; Doutorando do CPGCV - Sanidade Animal da UFRuralRJ

(3) Laboratório de Sanidade Animal, CCTA, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ; (4) Departamento de Parasitologia Animal/IV/UFRuralRJ, lopescwg@ufrj.br

SUMMARY: One hundred and ten japanese quails (*Coturnix japonica*) were divided in four groups. Two groups of 30 animals each were inoculated subcutaneously with 10^6 and 10^4 tachyzoites of SERO-47 strain of the *Toxoplasma gondii* respectively. The third group consisted of 20 animals was also inoculated subcutaneously with 10^5 tachyzoites 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 control. Macroscopically, hepatosplenomegaly and lung hypertrophy were observed in all infected animals on the 7th day after infection, independent of the strain used. Microscopically, these lesions were consisted of inflammatory cells infiltration, locally or diffuse, and they were consisted by lymphocytes and macrophages in the liver, lungs, kidneys, heart and breast muscles in all infected animals. In one of the quails inoculated with 'P' strain, perivascular cuffing was present in the brain. All controls remained healthy.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii*, Japanese quails, *Coturnix japonica*, pathology, experimental infection.

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário que infecta a maioria dos vertebrados de sangue quente, causando doença em animais e no homem (DUBEY & BEATTIE, 1988). As aves podem ser consideradas como fonte de infecção deste parasito, apesar de normalmente se manterem clinicamente sadias. Há mais de 10 anos, PEIXOTO & LOPES (1991) isolaram *T. gondii*, por bioprova em camundongos albinos, em 30 % das galinhas de criações de fundo de quintal e KANETO et al. (1997), ao utilizarem a cepa 'P' em frangos, isolaram o parasito no 35º dia após infecção (DAI) de diversos órgãos, sem que as aves tivessem qualquer resposta clínica.

A utilização de codornas como modelo aviário em pesquisas biomédicas, foi indicada por ICHILCIK & AUSTIN

(1978) e estas foram usadas por DUBEY et al. (1994) quando verificaram a capacidade das cepas ME49 e GT-1 do *T. gondii* causarem lesões em codornas.

Este experimento teve como objetivo observar as alterações macro e microscópicas em codornas infectadas com taquizoítas de duas cepas, SERO-47 e 'P', do *T. gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 110 codornas fêmeas com aproximadamente 30 dias de idade e divididas em quatro grupos. Dois grupos, com 30 animais cada foram inoculados subcutaneamente com 10^6 (Grupo I) e 10^4 (Grupo II) taquizoítas da cepa SERO-47 (MEDEIROS & LOPES, 1996), do *T. gondii*. O terceiro grupo, com 20 aves foi também, inoculado subcutaneamente, com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' (Grupo III), do mesmo parasito. O último grupo de 30 animais foi inoculado

* Sob auspícios do CNPq.

somente com solução fisiológica a 0,9% e considerado como controle.

Cinco codornas por grupo foram anestesiadas em câmara saturada de éter e sacrificadas por degola nos dias 1, 3, 7, 14, 21 e 70 após infecção (DAI), com exceção do grupo infectado com a cepa 'P' onde os sacrifícios ocorreram no 3°, 7°, 14° e 70° DAI. Após a necropsia e evisceração, o fígado, baço, pulmões e coração foram pesados individualmente e fragmentos destes acrescidos da musculatura peitoral, moela e rins foram acondicionados em solução de formalina tamponada a 10%, processados, cortados a uma espessura de 5µm e corados em Hematoxilina Eosina.

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

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos animais infectados com 10^4 taquizoítas da cepa SERO-47 foram observados, esplenomegalia no 3° ($p \leq 0,05$) e no 7° ($p \leq 0,01$) DAI, hepatomegalia ($p \leq 0,01$) no 7° DAI. Estas alterações foram mais acentuadas que nos animais infectados com 10^6 taquizoítas do *T. gondii*. Hipertrofia pulmonar foi observada no 7° DAI em todos os animais inoculados com a cepa SERO-47, independente da dose utilizada (Figuras 1, 2 e 3). Alterações semelhantes foram observadas,

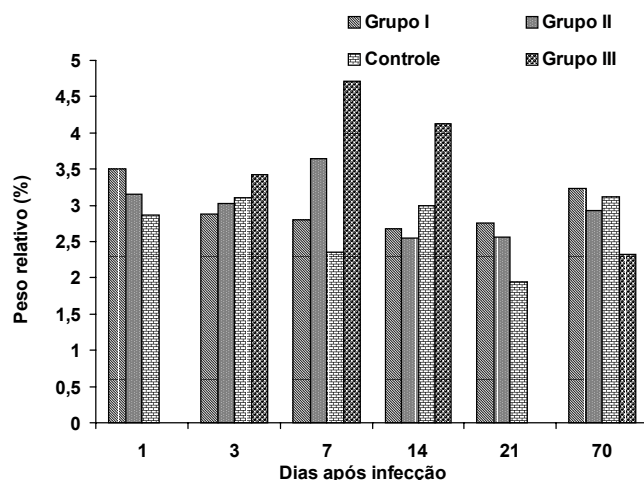


Figura 1. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos fígados de codornas inoculadas com 10^6 (Grupo I), 10^4 (Grupo II) taquizoítas da cepa SERO-47, 10^5 (Grupo III) taquizoítas da cepa 'P' e grupo controle.

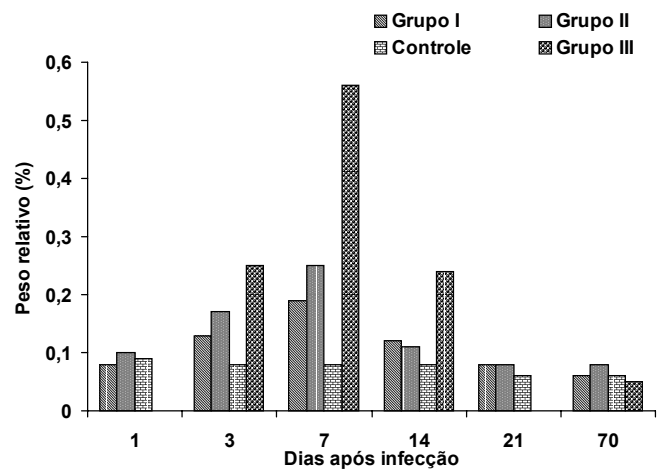


Figura 2. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos baços de codornas inoculadas com 10^6 (Grupo I), 10^4 (Grupo II) taquizoítas da cepa SERO-47, 10^5 (Grupo III) taquizoítas da cepa 'P' e grupo controle.

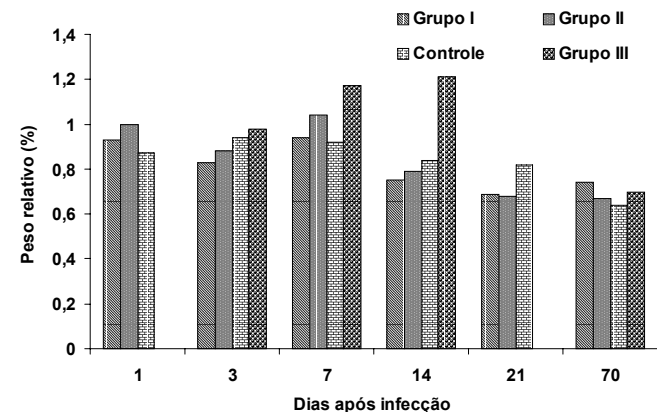


Figura 3. Toxoplasmose em codornas: peso relativo da média dos pulmões de codornas inoculadas com 10^6 (Grupo I), 10^4 (Grupo II) taquizoítas da cepa SERO-47, 10^5 (Grupo III) taquizoítas da cepa 'P' e grupo controle.

nos mesmos órgãos, quando codornas foram infectadas com 10^5 taquizoítas da cepa 'P'. Nestes animais foram evidenciadas, hepatomegalia acentuada no 7° ($P \leq 0,01$) em relação ao 14° DAI que foi moderada. A esplenomegalia causada pela cepa 'P' foi mais prolongada, indo até o 14° DAI ($p \leq 0,01$), em relação às aves inoculadas com a cepa SERO-47. Hipertrofia pulmonar também se fez presente no 7° e 14° DAI (Figuras 1, 2 e 3) o que diferiu da cepa SERO-47 que somente foi observada no 7° DAI. Não foram encontradas alterações nos pesos dos corações analisados.

As alterações macroscópicas observadas nesta pesquisa foram semelhantes às encontradas 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 frequentes. Da mesma maneira,

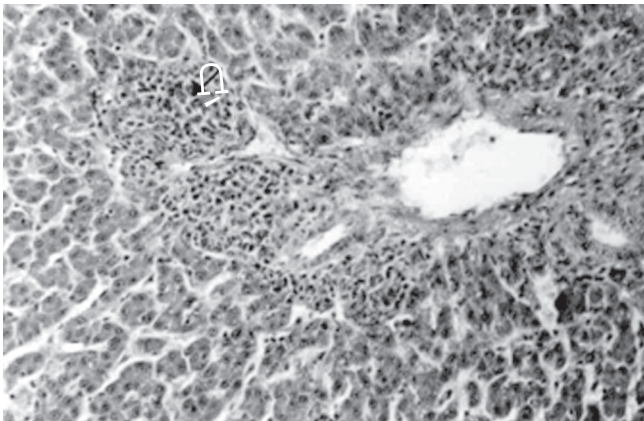


Figura 4. Microgranulomas (→) localizados no parênquima hepático próximo ao espaço porta em fígado de codorna infectada com 10^4 da cepa SERO-47 do *Toxoplasma gondii*. H.E., 200x.

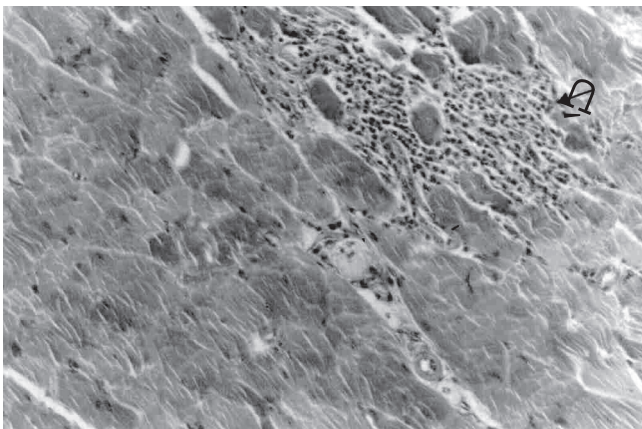


Figura 5. Musculatura peitoral de uma codorna inoculada com 10^6 taquizoítas da cepa SERO-47 do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado inflamatório localizado (→). H.E., 200x.

FLAUSINO et al. (2000) assinalaram a presença de esplenomegalia em codornas infectadas subcutaneamente com 10^3 taquizoítas da mesma cepa SERO-47.

Não foram observadas quaisquer alterações microscópicas dignas de nota, não só em todos os órgãos analisados dos animais do grupo controle, mas também em todos os animais sacrificados no 1° DAI.

Do 3° ao 21° DAI, o fígado foi um órgão bastante afetado, onde se observou microgranulomas disseminados por todo parênquima, caracterizados por células mononucleares (Figura 4). Algumas vezes, necrose focal estava acompanhada de hemorragia e acúmulo de células mononucleares em torno dos vasos sanguíneos. Degeneração vacuolar foi também observada no fígado não importando a cepa ou dose utilizada.

A presença de infiltrado mononuclear com alguns heterófilos foram observados entre as fibras musculares, sejam estas cardíacas, esqueléticas ou mesmo da moela (Figura 5). Nos rins foram observados somente infiltrados de células mononucleares de característica focal.

No Sistema Nervoso Central foi observada reação inflamatória perivascular, constituída por células mononucleares em um dos animais infectado com a cepa 'P' no 14° DAI (Figura 6), o que não foi observado em nenhum dos animais infectados com a cepa SERO-47.

A lesão observada nos pulmões foi caracterizada por pneumonia intersticial difusa. No interstício observou-se infiltração por macrófagos, linfócitos e heterófilos. Ocasionalmente, foi observada a presença de tentativa de organização da lesão em forma de granuloma (Figura 7).

Esses resultados foram semelhantes aos observados por DUBEY et al. (1994) quando usaram as cepas ME-49 e GT-1 do *T. gondii* em infecções experimentais de codornas, quando encontraram durante a fase aguda da infecção uma acentuada pneumonia, miocardite e meningoencefalite e na fase crônica, aos 63 DAI, a presença de moderada encefalite multifocal, miosite e hipertrofia esplênica com pigmentos de hemossiderina.

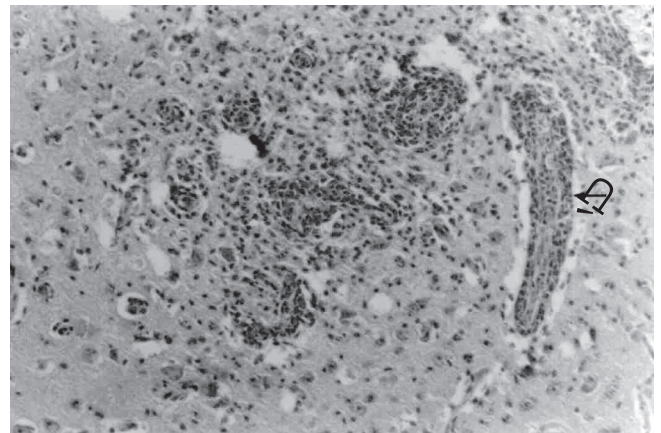


Figura 6. Cérebro de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado de células mononucleares ao redor dos vasos sanguíneos (→). H.E., 200x.

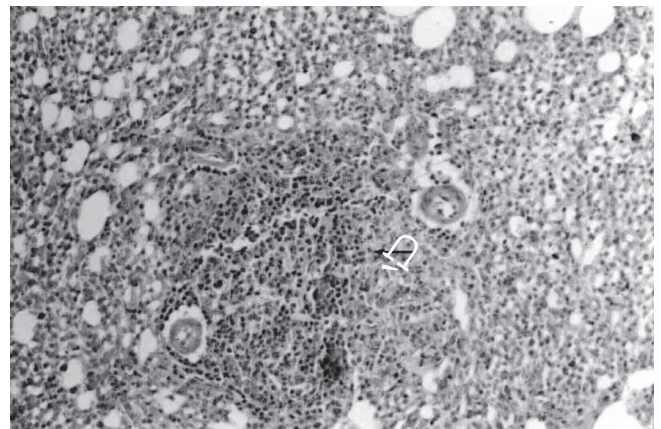


Figura 7. Pulmão de uma codorna inoculada com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do *Toxoplasma gondii*. Infiltrado generalizado de células mononucleares, caracterizando pneumonia intersticial (→). H.E., 200x.

Estas lesões foram mais acentuadas em animais infectados naturalmente por *T. gondii*, como as assinaladas por HOWERTH et al. (1991) que observaram miocardite necrosante, pneumonia intersticial com necrose multifocal, vasculite e hepatite necrosante multifocal com necrose hepatocelular periacinar em um papagaio vermelho. Por conseguinte, MIKAELIAN et al. (1997) ao trabalharem com a coruja de barrete, observaram a presença de hepatite necrótica multifocal com numerosos taquizoítos dentro do foco necrótico, no citoplasma de hepatócitos e macrófagos, aerossaculite e pericardite. Da mesma maneira, HOWERTH & RODENROTH (1985) encontraram necrose difusa com grande exsudação fibrinosa e acúmulo de macrófagos no baço em perus selvagens. Pneumonia intersticial, envolvendo muitos dos lóbulos respiratórios, parede dos capilares pulmonares espessados com 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, necrose pulmonar com hemorragia disseminada e acentuada destruição do parênquima com infiltrado granulocítico. Necrose acompanhada de infiltrado granulocítico e hiperemia foram observadas no fígado, baço e rins, e necrose focal com infiltrado mononuclear na musculatura esquelética e no miocárdio dos animais estudados neste trabalho.

Não foram observadas quaisquer formas do parasito nas lâminas examinadas.

SUMÁRIO

Um total de 110 codornas foi dividido em quatro grupos. Dois grupos, com 30 animais cada, foram inoculados subcutaneamente com 10^6 e 10^4 taquizoítas da cepa SERO-47 do *T. gondii*. O terceiro grupo, com 20 aves foi também, inoculado subcutaneamente, com 10^5 taquizoítas da cepa 'P' do mesmo parasito. O último grupo de 30 animais foi inoculado com solução salina a 0,9%, e considerado como controle. Macroscopicamente foram observados hepatoesplenomegalia e hipertrofia pulmonar no 7º DAI em todos os animais infectados, independente da cepa utilizada. Microscopicamente foram observados reação inflamatória de natureza focal ou difusa, caracterizadas por 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 infectado com a cepa 'P' foi observada reação inflamatória perivascular no cérebro. Todos os animais controles permaneceram sem alterações.

PALAVRAS-CHAVE: *Toxoplasma gondii*, codornas, *Coturnix japonica*, patologia, infecção experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DHILLON, A., THACKER, H.L. & WINTERFIELD, R.W. 1982. Toxoplasmosis in mynahs. *Avian Dis.*, 26:445-449.
- DUBEY, J.P. & BEATTIE, C.P. 1988. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, 275 p.
- 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.*, 6:216-221.
- FLAUSINO, W., ALBUQUERQUE, G.R., MUNHOZ, A.D. & LOPES, C.W.G. 2000. Infecção experimental em codornas (*Coturnix coturnix japonica*) com *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909. *Rev. Univ. Rural, ser. Ciênc. Vida*, 22(Supl.1):91-94.
- HOWERTH, E.W.; RICH, G.; DUBEY, J.P. & YOGASUNDRAM, K. 1991. Fatal toxoplasmosis in a red lory (*Eos bornea*). *Avian Dis.*, 35:642-646.
- HOWERTH, E.W. & RODENROTH, N. 1985. Fatal systemic toxoplasmosis in a wild turkey. *J. Wild. Dis.*, 21:446-449.
- ICHILCIK, R. & AUSTIN, J.C. 1978. The japanese quail (*Coturnix japonica*) as a laboratory animal. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 49:203-207.
- 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.*, 69:203-210.
- MIKAELIAN, I., DUBEY, J.P. & MARTINEAU, D. 1997. Severe hepatitis resulting from toxoplasmosis in a barred owl (*Strix varia*) from Québec, Canada. *Avian Dis.*, 41:738-740.
- MEDEIROS, S.M. & 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.*, 18:71-73.
- PARENTI, E., CERRUTI, S.S., TURILLI, C. & CORAZZOLA, S. 1986. Spontaneous toxoplasmosis in canaries (*Serinus canaria*) and other small passerine cage birds. *Avian Pathol.*, 15:183-197.
- PEIXOTO, C.M.S. & LOPES, C.W.G. 1991. Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em galinhas naturalmente infectadas. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 13:105-111.