

## NOTA DE PESQUISA

### ***Cystoisospora felis* E *C. rivolta* (APICOMPLEXA: CYSTOISOSPORINAE) EM VÍSCERAS DE GERBIS DA MONGÓLIA (*Meriones unguiculatus*) E SUA TRANSMISSÃO PARA GATOS LIVRES DE COCCÍDIOS\***

PAULO R. DE CARVALHO FILHO<sup>1</sup>; FABIANA V. MASSAD<sup>1</sup>; MARIANA M. BEZERRA<sup>2</sup>;  
FRANCISCO CARLOS R. DE OLIVEIRA<sup>3</sup>; CARLOS WILSON G. LOPES<sup>4</sup>

**ABSTRACT:-** CARVALHO FILHO, P.R. DE; MASSAD, F.V.; BEZZERRA, M.M.; OLIVEIRA, F.C.R. DE; LOPES, C.W.G. [*Cystoisospora felis* and *C. rivolta* in Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) viscera and their transmission to Coccidia-free cats.] *Cystoisospora felis* e *C. rivolta* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em vísceras de gerbis da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) e sua transmissão para gatos livres de coccídios. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 4, p. 169-172, 2004. Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (CPCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: paulorcf@ufrj.br, fvmassad@ufrj.br. E-mail: lopescwg@ufrj.br

*Cystoisospora felis* and *C. rivolta* have tropism for extra-intestinal organs whenever sporulated oocysts are ingested by a nonfelid intermediate host. The present work aims to verify the possibility of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) in being infected by both *Cystoisospora* species and their ability in transmitting tissue forms of resistance in viscera such as liver, spleen and mesenteric lymph nodes to Coccidia-free kittens. Both species were able to complete their life cycle having Mongolian gerbils as intermediate host. In this study, it was observed that *C. rivolta* was more lymph tropic than *C. felis*.

**KEY WORDS:** *Cystoisospora felis*, *C. rivolta*, viscera, Mongolian gerbils, feline.

## RESUMO

*Cystoisospora felis* e *C. rivolta* possuem tropismo por órgãos extra-intestinais quando oocistos esporulados são ingeridos por hospedeiros intermediários não-felídeos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a possibilidade de infecção destas duas espécies do gênero *Cystoisospora* a gerbis da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) e sua capaci-

dade em transmitir formas de resistência teciduais em vísceras como fígado, baço e linfonodos mesentéricos a gatos livres de infecção por coccídios. Ambas as espécies foram aptas em completar o ciclo em gerbis da Mongólia. Neste estudo, observou-se que *C. rivolta* foi mais linfotrópica que *C. felis*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cystoisospora felis*, *C. rivolta*, vísceras, gerbis da Mongólia, felino.

\*Sob auspícios do CNPq e FAPERJ

<sup>1</sup> Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (CPCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 Km 7 CEP 23890-000 - Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: paulorcf@ufrj.br, fvmassad@ufrj.br

<sup>2</sup> Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ e bolsista do PIBIC (CNPq/UFRRJ).

<sup>3</sup> Laboratório de Sanidade Animal, CCTA, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. E-mail: foliveira@uenf.br

<sup>4</sup> Departamento de Parasitologia Animal/IV, UFRRJ, BR 465 Km 7 CEP 23890-000 - Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: lopescwg@ufrj.br

*Cystoisospora felis* e *C. rivolta* são parasitos intestinais comuns em gatos domésticos (SHAH, 1971) e felídeos silvestres (BARRETTO; ALMEIDA, 1937; AMARAL et al., 1966; PATTON; RABINOWITZ, 1994). Estes se infectam através da ingestão de oocistos esporulados ou através da ingestão de tecidos de animais infectados com estes coccídios (DUBEY; FRENKEL, 1972; FRENKEL; DUBEY, 1972).

As espécies do gênero *Cystoisospora* têm a capacidade de formar estágios extra-intestinais em seus hospedeiros definitivos, assim como em uma ampla variedade de hospedeiros intermediários, incluindo ratos, camundongos, hamsters

(FRENKEL; DUBEY, 1972), pássaros (LINDSAY; BLAGBURN, 1994), bovinos (FAYER; FRENKEL, 1979), coelhos (COSTA; LOPES, 1994), frangos (MASSAD et al., 2002) e suínos (MELO et al., 2003; CARVALHO FILHO et al., 2003).

*Cystoisospora felis* se distribui sistemicamente em diversas vísceras, onde são formados cistos monozóicos, contendo apenas uma forma denominada hipnozoíta (MARKUS, 1976; LEVINE, 1985). Nos hospedeiros intermediários estudados, os hipnozoítas possuem maior tropismo pelas órgãos com atividade linfóide, como os linfonodos mesentéricos, as placas de Peyer, baço além do fígado (DUBEY; FRENKEL, 1972; BRÖSIGKE et al., 1982; COSTA; LOPES, 1994; FREIRE; LOPES, 1996).

O presente trabalho teve como objetivo verificar a capacidade de gerbis em transmitir a infecção de *C. felis* e *C. rivolta* a gatos livres de coccídios, avaliar a dispersão de hipnozoítas de ambas espécies em vísceras de gerbis através de prova biológica em gatos livres de coccídios, possibilitando que os mesmos eliminem oocistos de ambas as espécies nas fezes.

Quatro gatos de seis semanas de vida, livres de infecção por coccídios foram obtidos de uma gata prenhe tratada com coccidiostáticos, seguindo a metodologia empregada por Loss e Lopes (1997) modificada por Carvalho Filho et al. (2003). Cinco gerbis da Mongólia (*Meriones unguiculatus*), com peso médio de 40 g, foram inoculados com auxílio de uma cânula oro-esofágica com uma suspensão purificada de  $5,6 \times 10^5$  oocistos esporulados de *C. felis* e *C. rivolta* na proporção

Tabela 1. Períodos pré-patente e de patência em relação a espécie do gênero *Cystoisospora* e vísceras administradas oralmente a gatos livres de infecção por coccídios.

Períodos (dias)	Fígado		Baço		Linfonodos mesentéricos	
	<i>C. felis</i>	<i>C. rivolta</i>	<i>C. felis</i>	<i>C. rivolta</i>	<i>C. felis</i>	<i>C. rivolta</i>
Pré-patente	4	5	6	7	3	6
Patência	32	35	4	1	31	32

média (n=5) de 96% e 4%, respectivamente, purificados conforme Souza e Lopes (1984).

Ao 36º dia após infecção, estes animais foram eutanasiados através de injeção intravenosa de tiopental sódico pela veia coccígea, conforme Resolução nº 714 de 20 de junho de 2002 do CFMV. Durante a necropsia, o fígado, o baço e os linfonodos mesentéricos foram removidos, pesados, umedecidos com salina 0,9% e macerados em gral e pistilo, totalizando três inóculos de 9 gramas, 250 miligramas e 4,5 gramas, respectivamente.

Os gatos livres de coccídios foram desmamados com seis semanas de idade e foram alojados individualmente em gaiolas de aço flambadas anteriormente ao uso. Três animais foram alimentados com um dos inóculos adicionado a porções iguais de ração úmida para gatos. O quarto gato livre de coccídios serviu de controle para o experimento e foi alimentado com ração úmida adicionada de solução salina a 0,9%, tendo sido também alojado em gaiola individual e mantido em sala separada dos demais animais.

A partir do dia seguinte à inoculação dos felinos, foram realizados exames de fezes diários pela técnica de centrifugo-flutuação segundo Figueiredo et al. (1984), pelo período de 41 dias.

Amostras de fezes de cada dia de eliminação eram diluídas, peneiradas, adicionadas a dicromato de potássio a 2,5% na proporção de 1:9 e armazenadas em frascos estéreis onde os oocistos eram postos a esporular através de aeração forçada do líquido com uma bomba de aquário à temperatura ambiente, até que pelo menos 80% dos oocistos se tornassem esporulados.

Vinte oocistos esporulados de ambas as espécies estudadas e de cada um dos animais inoculados foram medidos onde foram observados os diâmetros maior e menor do oocisto e dos esporocistos, com auxílio de ocular micrométrica GF-P16X acoplada a microscópio Carl Zeiss Jenapol.

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o Teste de Comparação Múltipla de Tukey-Kramer conforme Sampaio (2002).

Tabela 2. Eliminação de oocistos das espécies do gênero *Cystoisospora* por gatos livres de infecção por coccídios através da ingestão de vísceras de gerbis pré-inoculados com oocistos de ambas espécies.

Vísceras	Peso do inóculo (g)	Oocistos eliminados de ambas espécies	Proporção entre espécies		Relação oocistos/grama de inóculo
			<i>C. felis</i>	<i>C. rivolta</i>	
Fígado	9,00	6.456.508	87,0%	13,0%	717.390
Baço	0,25	8.747	96,9%	3,1%	34.988
Linfonodos mesentéricos	4,50	14.962.491	85,5%	14,5%	3.329.618
Total	13,75	21.427.746	86,0%	14,0%	1.558.382
Oocistos administrados de ambas espécies*					
Inoculo inicial*	-	560.000	96,0%	4,0%	NE

\* Inoculo administrado aos gerbis.

NE – Não existente.

Tabela 3. Análise morfométrica de oocistos esporulados de *Cystoisospora felis* e respectivos esporocistos provenientes de diferentes inóculos\*.

Vísceras	Oocistos			Esporocistos		
	DM	Dm	M	dM	dm	M
Baço	34,46±1,80 <sup>A</sup>	24,64±1,53 <sup>D</sup>	1,40±0,09	17,30±1,47	14,96±1,11	1,16±0,11
Fígado	34,82±1,47 <sup>B</sup>	25,87±1,13 <sup>A,D</sup>	1,35±0,06	18,30±1,92 <sup>C</sup>	15,47±1,12 <sup>D</sup>	1,19±0,12
Linfonodos mesentéricos	32,19±1,39 <sup>A,B</sup>	23,71±1,26 <sup>A</sup>	1,36±0,08	16,46±1,53 <sup>C</sup>	14,51±0,89 <sup>D</sup>	1,14±0,11

\* Analisado pelo teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer;

<sup>A,B</sup> Letras iguais demonstram diferença significativa com p<0,001;<sup>C</sup> Letras iguais demonstram diferença significativa com p<0,01;<sup>D</sup> Letras iguais demonstram diferença significativa com p<0,05;

Letras diferentes ou ausência de letras demonstram não-significância com p&gt;0,05.

Tabela 4. Análise morfométrica de oocistos esporulados de *Cystoisospora rivolta* e respectivos esporocistos provenientes de diferentes inóculos\*.

Vísceras	Oocistos			Esporocistos		
	DM	Dm	M	dM	dm	M
Baço	17,00±3,46 <sup>A,B</sup>	12,91±1,88 <sup>A</sup>	1,31±0,10 <sup>A,C</sup>	10,40±0,99 <sup>A,B</sup>	9,06±0,69 <sup>D</sup>	1,15±0,11 <sup>A</sup>
Fígado	20,30±0,59 <sup>B</sup>	16,74±0,86 <sup>A</sup>	1,21±0,02 <sup>C,D</sup>	14,29±0,62 <sup>B</sup>	8,02±0,38 <sup>A,D</sup>	1,78±0,08 <sup>A</sup>
Linfonodos mesentéricos	22,08±2,33 <sup>A</sup>	19,87±2,98 <sup>A</sup>	1,12±0,12 <sup>A,D</sup>	14,10±1,28 <sup>A</sup>	10,51±1,81 <sup>A</sup>	1,36±0,13 <sup>A</sup>

\* Analisado pelo teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer;

<sup>A,B</sup> Letras iguais demonstram diferença significativa com p<0,001;<sup>C,D</sup> Letras iguais demonstram diferença significativa com p<0,01;

Letras diferentes ou ausência de letras demonstram não-significância com p&gt;0,05.

Os três felinos inoculados oralmente com fígado, baço e linfonodos mesentéricos de gerbis da Mongólia iniciaram a eliminação de oocistos de ambas as espécies. Os períodos pré-patente e de patência para *C. felis* e *C. rivolta* podem ser observados na Tabela 1. Os resultados observados no presente trabalho corroboram os de Dubey e Frenkel (1972), que observaram período pré-patente de 5-8 dias para *C. felis* e 5-7 para *C. rivolta* após a ingestão de vísceras infectadas. Resultados semelhantes foram observados também por Dubey e Streitel (1976). Lindsay e Blagburn (1994) descreveram um período de patência de 10-11 dias para *C. felis* e um período maior que 14 dias para *C. rivolta*, quando foram inoculados gatos livres de infecção por coccídios com 10<sup>4</sup> oocistos esporulados por via oral.

Pode-se evidenciar com base nos oocistos eliminados pelos felinos (Tabela 2) e até no período de patência (Tabela 1) dos gatos que ingeriram linfonodos mesentéricos e fígado, que de forma geral, ambos as espécies tiveram um tropismo maior por estes órgãos do hospedeiro intermediário, inicialmente pelos linfonodos mesentéricos e secundariamente pelo fígado, tendo como base, a relação oocistos eliminados por peso de órgão de gerbis previamente infectados e a porcentagem de eliminação de ambas as espécies. *Cystoisospora rivolta*, em especial, apresentou característica linfotrópica maior que *C. felis*, tendo como base a mesma relação anterior.

Em relação às medidas dos oocistos esporulados de ambas espécies (Tabelas 3 e 4), oocistos esporulados de *C. felis* oriundos de linfonodos mesentéricos tiveram maiores variações em

relação a dimensões enquanto que os de *C. rivolta*, apresentaram alterações em relação à forma, dentre os diferentes inóculos. Os oocistos esporulados foram semelhantes aos observados por Rocha e Lopes (1971).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, V.; AMARO, R.G.; BIRGEL, E.H. Ocorrência da *Isoospora felis* Wenyon, 1923, em suçuarana (*Puma concolor*). *Revista da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária*, v. 4, n. 1, p. 25-28, 1966.
- BARRETTO, J.F.; ALMEIDA, J.L. de. Primeiras observações sobre a presença de *Isoospora felis* Wenyon, 1923 (Protozoa-Eimeridia) em felídeos no Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 8, p. 357-360, 1937.
- BRÖSIGKE, S.; HEINE, J.; BOCH, J. Der nachwels extraintestinalen Entwicklungstadien (Dormozysten) in experimentall mit *Cystoisospora rivolta* oozysten infierten Mause. *Klontier Praxis*, v. 27, n. 1, 25- 34, 1982.
- CARVALHO FILHO, P.R.; MELO, P.S.; MASSAD, F.V.; LOPES, C.W.G. Determinação da infecção de suínos por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) através de prova biológica em felinos livres de coccídios. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 7-12, 2003.
- COSTA, P.S. da; LOPES, C.W.G. Hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 1, n. 1, p. 35-36. 1994.
- DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Extra-Intestinal stages of *Isoospora*

- felis* and *I. rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. *Journal of Protozoology*, v. 19, n. 1, p. 89-92. 1972.
- DUBEY, J.P.; STREITEL, R.H. *Isospora felis* and *I. rivolta* infections in cats induced by mouse tissue or oocysts. *British Veterinary Journal*, v. 132, n. 6, p. 649-651. 1976.
- FAYER, R.; FRENKEL, J.K. Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidia: *Besnoitia*, *Hammondia*, *Cystoisospora*, *Sarcocystis* and *Toxoplasma*. *Journal of Parasitology*, v. 65, n. 5, p. 756-762. 1979.
- FIGUEIREDO, P.C. de; SERRA FREIRE, N.M.; da; GRISI, L. Eimerias de bovinos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro: técnicas de diagnóstico e espécies identificadas. *Atas da Sociedade Biológica do Rio de Janeiro*, v. 24, n. 1, p. 3-10, 1984.
- FREIRE, R.B.; LOPES, C.W.G. Distribuição de hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em camundongos albinos experimentalmente infectados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, n. 1, p. 23-28. 1996.
- FRENKEL, J. K.; DUBEY, J.P. Rodents as vectors for feline Coccidia, *Isospora felis* and *Isospora rivolta*. *Journal of Infectious Diseases*, v. 125, n. 1, p. 69-72. 1972.
- LEVINE, N.D. *Veterinary Protozoology*. Ames: 1<sup>st</sup> ed. Iowa State University Press, 1985. 414 p.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. Biology of Mammalian *Isospora*. *Parasitology Today*, v. 10, n. 6, p. 214-220. 1994.
- LOSS, Z.G.; LOPES, C.W.G. Tratamento durante a gestação e no período pós-parto com sulfadiazina associada à pirimetamina de gatas portadoras de infecção natural por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) e *C. rivolta* (Grassi, 1879) (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 57-60, 1997.
- MARKUS, M.B. A term for extraintestinal stages of mammalian *Isospora* (Protozoa, Coccidia, Eimeriidae). *South African Journal of Science*, v. 72, n. 6, p. 220. 1976.
- MASSAD, F.V.; OLIVEIRA, F.C.R.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G. Hipnozoítas de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em frangos. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 10, n. 1, p. 57-58, 2002.
- MELO, P.S.; CARVALHO FILHO, P.R.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Hypnozoites of *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) in swine (*Sus scrofa domestica*) viscera: a new intermediate host, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 3, p. 103-107, 2003.
- PATTON, S.; RABINOWITZ, A. R. Parasites of wild felidae in Thailand: a coprological survey. *Journal of Wildlife Disease*, v. 30, n. 3, p. 472-475, 1994.
- ROCHA, E.M.; LOPES, C.W.G. Comportamento da *Isospora canis*, *Isospora felis* e *Isospora rivolta* em infecções experimentais em cães e gatos. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 1, n. 2, p. 65-70, 1971.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2<sup>a</sup> ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265 p.
- SOUZA, W.J.S. de; LOPES, C.W.G. Separation and purification of *Hammondia heydorni* (Apicomplexa: Sarcocystidae) oocysts from dogs faeces by modified Vetterling's method. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 7, n. 2, p. 161-164, 1984.

Recebido em 23 de agosto de 2004.

Aceito para publicação em 23 de dezembro de 2004.