

CORRELAÇÃO ENTRE *TOXOPLASMA GONDII* E *CRYPTOSPORIDIUM BAILEYI* EM FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS.

M. V. MEIRELES^{1,4}; A. C. PAULILLO²; A. J. DA COSTA²; F. R. MORAES²; F. A. DE ÁVILA³ & G. S. DA SILVA⁴

(1) Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal - Faculdade de Odontologia - UNESP - Campus de Araçatuba. Rua José Bonifácio 1193 CP. 533 16000; (2) Departamento de Patologia Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Campus de Jaboticabal; (3) Departamento de Microbiologia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Campus de Jaboticabal; (4) Pós-graduandos - Curso de pós-graduação em Zootecnia - área de concentração em Produção Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Campus de Jaboticabal.

SUMÁRIO: Frangos de corte foram inoculados com oocistos de *T. gondii* e *C. baileyi*, associados ou não, com variação na dose infectante e na data da inoculação, para análise de aspectos clínicos, parasitológicos e parâmetros zootécnicos. Nos grupos inoculados com *T. gondii* foi observada diarreia com presença de fezes esverdeadas, além da morte de 2 aves. No final do experimento, a necropsia de aves inoculadas com o *C. baileyi* revelou, em algumas aves, na bursa de Fabrício, a presença de exsudato caseoso preenchendo sua luz, além de atrofia e hiperemia. Os resultados de ganho de peso indicam que o *C. baileyi* não afetou o desempenho das aves infectadas. Os grupos inoculados com o *T. gondii* associado ou não ao *C. baileyi* apresentaram desempenho inferior ao dos outros grupos, embora essa diferença não seja estatisticamente significativa. Na análise da eliminação de oocistos do *C. baileyi* observou-se um número menor de oocistos eliminados nas aves inoculadas aos 36 dias de idade. Com infecção prévia pelo *C. baileyi* foi detectado surto parasitêmico aos 3, 8, 12 e 19 dias após a inoculação do *T. gondii*, enquanto que nos outros grupos previamente inoculados com *T. gondii*, parasitemia foi detectada com 5, 8, 12 e 28 dias após a inoculação do mesmo. Foram efetuados 54 isolamentos de *T. gondii*, assim distribuídos: cérebro (5), coração (5), retina (5), rins (5), músculo (4), baço (4), pâncreas (3), proventrículo (4), bursa (3), moela (5), ID/ceco (4), fígado (3) pulmão (4). A infecção prévia pelo *C. baileyi* não interferiu no isolamento de *T. gondii*.

PALAVRAS-CHAVE: *Cryptosporidium baileyi*, *Toxoplasma gondii*, frangos de corte, infecção experimental.

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário que apresenta pouca especificidade em relação a hospedeiros, sendo encontrado em diversas espécies de mamíferos e aves (MILLER *et alii*, 1972). Segundo KEAN (1972), aproximadamente meio bilhão de pessoas possuem anticorpos anti-*T. gondii*.

A infecção por *T. gondii* em aves é considerada rara quando comparada a outras espécies animais. ERICHSEN & HARBOE (1953) relataram infecção natural em galinhas, com um curso de várias semanas, ocasionalmente causando cegueira. No Brasil, NÓBREGA *et alii* (1955) detectaram epizootia em um lote de 600 frangos de 2 a 6 meses de idade, onde a mortalidade atingiu 50%.

Apesar do *T. gondii* raramente causar doença clínica em aves, a galinha é considerada um importante reservatório deste protozoário (JACOBS *et alii*, 1962), que pode ser encontrado, inclusive, em aviários industriais (ARAÚJO *et alii*, 1989).

BIANCIFIORI *et alii* (1986) inocularam matrizes com oocistos de *T. gondii*, via oral, e observaram nas aves que receberam 50.000 oocistos queda da postura e mortalidade embrionária nas duas primeiras semanas após a inoculação. O *T. gondii* foi isolado do cérebro, coração, fígado, baço e pulmões das aves infectadas.

DUBEY *et alii* (1993), também através de infecção experimental em frangos, isolaram cistos de *T. gondii* do cérebro, coração e músculos semi-tendinoso e semi-membranoso.

Após o primeiro relato da infecção em aves por TYZZER (1929), o *Cryptosporidium* vem assumindo importância crescente para a indústria avícola, fato este comprovado por literatura recente (GOODWIN, 1989), que indica que a infecção respiratória, intestinal e na bursa de Fabricius é comum em aves domésticas, especialmente em frangos de corte. No Brasil, o *C. baileyi* foi isolado e identificado por MEIRELES & FIGUEIREDO (1992).

Em infecções respiratórias, o *Cryptosporidium* causa doença clínica com aumento de morbidade e mortalidade em frangos (BLAGBURN *et alii*, 1987), perus (GLISSON *et alii*, 1984), codornas (THAM *et alii*, 1982), faisões (WITTINGTON & WILSON, 1985), pavões (MASON & HARTLEY, 1980) e perdizes (SIRONI *et alii*, 1991).

A localização desse parasito no intestino provoca quadros de enterite, diarreia e aumento de mortalidade em perus (GOODWIN *et alii*, 1988), codornas (GUY *et alii*, 1987), periquito e cacatua (GOODWIN & KRABILL, 1989). A criptosporidiose intestinal é rara em frangos e sua patogenicidade para o trato gastrointestinal nessa espécie é desconhecida.

Segundo GUY *et alii* (1988), pelo fato da bursa de Fabricius ser o principal órgão afetado pelo *Cryptosporidium*, um impedimento funcional desse órgão pode ocorrer em frangos. Infecções experimentais com *C. baileyi* associado ao reovírus (GUY *et alii*, 1988) e *C. baileyi* associado ao vírus da doença de Gumboro (LEVY *et alii*, 1988), demonstraram que pode haver um efeito sinérgico entre este protozoário, quando presente na bursa de Fabricius, e outros agentes etiológicos.

O presente trabalho tem como objetivos correlacionar a infecção por *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium baileyi*, em aves experimentalmente infectadas, no que se refere aos aspectos clínicos, parasitológicos e parâmetros zootécnicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e Padronização dos oocistos do *C. baileyi*

A amostra de *C. baileyi* utilizada foi obtida no laboratório de Ornitopatologia do curso de Medicina Veterinária da UNESP - Campus de Araçatuba, sendo originalmente isolada no Estado do Rio de Janeiro (MEIRELES & FIGUEIREDO, 1992).

Esses oocistos foram inoculados diretamente no engluvício de pintos de 2 dias de idade, com auxílio de uma sonda de metal, para multiplicação do parasito. As fezes dessas aves foram colhidas do 8º ao 13º dia após a inoculação, coadas em peneiras e armazenadas em bi-

cromato de potássio a 2,5% a 4°C. Posteriormente, os oocistos foram concentrados pelo método de ARROWOOD & STERLING (1987). A contagem de oocistos e a padronização do inóculo foram feitas com a utilização de uma câmara de Neubauer.

Obtenção e padronização dos oocistos esporulados de *T. gondii*

Quatro gatos cada um receberam cerca de 500 cistos de *T. gondii* obtidos de camundongos cronicamente infectados pela amostra P. Alguns desses animais foram sacrificados, seus encéfalos removidos, triturados em gral esteril e emulsionados em solução fisiológica esteril. A suspensão contendo os cistos foi administrada ao gatos através de cânula esofágica acoplada a uma seringa. Durante 15 dias consecutivos colheram-se as fezes totais depositadas pelos gatos, a cada período de 24 horas. O material de cada dia foi imerso em frascos separados, de acordo com o dia da emissão das fezes, contendo uma solução de ácido sulfúrico a 2% conforme recomenda DUBEY *et alii* (1972). Os frascos foram mantidos à temperatura ambiente e agitados pelo menos duas vezes ao dia para esporulação. Mantev-se os mesmos procedimentos com os conteúdos dos intestinos grosso e delgado dos gatos, sacrificados e necropsiados no 15º (dia pós-inoculação). Decorridos sete dias em fase de esporulação, o conteúdo de cada frasco foi examinado para a presença de oocistos de *T. gondii*, os quais foram identificados através de critérios morfológicos (ZAMAN, 1970) e de inoculações intraperitoneais em camundongos (DUBEY *et alii*, 1972).

Após a esporulação, os oocistos foram lavados com água destilada para a remoção do ácido sulfúrico, estocados a 4°C, em geladeira e imersos em solução fisiológica até o momento de serem utilizados.

Para o estabelecimento dos inóculos, as suspensões de oocistos foram padronizadas, obtendo-se os tamanhos dos inóculos (nº de oocistos desejados/ml). Para a contagem de oocistos por mililitro da suspensão, utilizou-se a técnica adotada por COSTA (1979).

Aves experimentais e manejo

Foram utilizados 84 pintos de corte, machos de linhagem comercial.

A distribuição dos pintos em lotes de aves experimentais deu-se no início do período experimental (21º dia de vida), precedendo naturalmente à inoculação de *Toxoplasma* e/ou *Cryptosporidium*. Esses pintos foram distribuídos, aleatoriamente, em 7 tratamentos (grupos) e 3 repetições com 4 aves por parcela.

Em sua fase inicial (11-21 dias) foram alojadas em baterias com aquecimento elétrico. O alojamento na fase final (21-51 dias) ocorreu em gaiolas de recria, permanecendo 4 aves por unidade de gaiola.

As aves foram alimentadas com ração comercial (isenta de agente anticoccidiano) e submetidas às idênticas condições de manejo usual em avicultura.

No vigésimo primeiro dia de vida, as aves receberam os inóculos de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição das aves em grupos experimentais.

Grupo	Nº de aves*	Oocistos de <i>T. gondii</i>			Oocistos de <i>C. baileyi</i>	
		Dose	Via de Inoculação		Dose	Via de Inoculação
I	12	PLACEBO	Oral	←**	1 x 10 ⁶	Oral
II	12	1 x 10 ³	Oral	←	1 x 10 ⁶	Oral
III	12	1 x 10 ⁴	Oral	←	1 x 10 ⁶	Oral
IV	12	1 x 10 ³	Oral	→	1 x 10 ⁶	Oral
V	12	1 x 10 ⁴	Oral	→	1 x 10 ⁶	Oral
VI	12	5 x 10 ⁴	Oral	→	PLACEBO	Oral
VII†	12	PLACEBO	Oral		PLACEBO	Oral

† Testemunho

* Parasitemicamente negativas para *T. gondii* (20 dias de vida). Coprologicamente negativas para *C. baileyi*.

** Sequência de inoculação. Grupos II e III, inoculação de *T. gondii* 9 dias após a inoculação do *C. baileyi* (30 dias de idade). Grupos IV e V, inoculação do *C. baileyi* 15 dias após inoculação do *T. gondii* (36 dias de idade).

Exames Clínicos

Todos os grupos foram observados, duas vezes ao dia, até o final do experimento, em relação a manifestações clínicas e mortalidade.

Determinação de parasitemia (*T. gondii*)

A técnica adotada por COSTA (1979) foi utilizada para pesquisa de *T. gondii* na corrente sanguínea das aves deste projeto.

Foram colhidas 147 amostras de sangue a partir do 21º dia de vida das aves, com intervalos regulares de 4-5 dias até o final do período experimental, sendo realizadas 7 colheitas de sangue no total. As amostras de sangue, correspondentes a 25% das aves de cada grupo, foram colhidas por punção na veia da asa. De cada ave foram colhidos 3 ml de sangue, que foram acondicionados com anti-coagulante (EDTA, 1mg/ml). Essas amostras foram submetidas à centrifugação, com posterior colheita da camada leucocitária e inoculação de um "pool" correspondente a amostras de 3

aves, 1 de cada repetição, em camundongos, via intra-peritoneal, com utilização de 4 animais por "pool" de amostras de sangue. Após a inoculação, esses animais foram observados quanto à apresentação de sinais clínicos (aumento de volume abdominal e apatia). Na presença desses sinais, os mesmos foram sacrificados e procedeu-se à pesquisa de taquizoítos na cavidade abdominal. Na ausência de sinais, esses animais foram sacrificados 6 semanas após a inoculação, procedendo-se à pesquisa de cistos em macerados de cérebro e à colheita de sangue para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma* no soro desses animais, através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

Pesquisa de oocistos de *C. baileyi* nas fezes

Foram colhidas amostras de fezes com intervalos regulares de 3 dias, em todos os grupos, do 2º dia após a inoculação ao 2º dia após a última detecção de oocistos. Essas amostras, correspondentes a 10g de fezes, foram diluídas em 90 ml de água, sendo a contagem dos oocistos feita em câmara de Neubauer.

Avaliação de parâmetros zootécnicos

Após a distribuição dos pintos em lotes de aves experimentais e a partir do início do período experimental (21º dia de vida das aves), foram efetuados controles dos parâmetros zootécnicos: ganho de peso e conversão alimentar por parcela. Para tanto, foram realizadas pesagens iniciais e finais das aves em sua fase de engorda (21-51 dias de vida), como também pesagens das rações ao início e término da fase em questão.

A conversão alimentar das aves foi obtida mediante divisão do total de consumo de ração por ganho de peso em cada parcela.

Exames anatomopatológicos

Decorridos 30 dias do período experimental, todas as aves foram sacrificadas para realização de necropsia e observação de lesões macroscópicas.

Pesquisa de *T. gondii* em tecidos dos frangos necropsiados

No final do experimento (51 dias de idade), as aves foram sacrificadas e necropsiadas, sendo colhidos aproximadamente 30 g de tecido por ave, em cada repetição, do cérebro, coração, pulmões, fígado, baço, pâncreas, timo, músculo esquelético, rins, moela, papo, proventrículo, intestino delgado, cecos e bursa de Fabrício e as retinas de cada ave.

Fragmentos de cérebro, baço, fígado, rins, timo, bursa de Fabrício e retinas foram triturados, individualmente, em gral esteril, suspensos em solução salina esteril com antibióticos (1 litro de sol. fisiológica, 1.000.000 UI de penicilina e 100 mg de estreptomicina) e inoculados em camundongos. Fragmentos dos demais órgãos foram moídos e submetidos à digestão péptica artificial, conforme técnica preconizada por JACOBS & MELTON (1957). Foram utilizados 4 camundongos por "pool" de amostras, os quais receberam, via intra-peritoneal, 2 doses de 1 ml, administradas com intervalo de 12 horas. A metodologia de observação clínica dos camundongos foi a mesma utilizada na determinação da parasitemia, inclusive a colheita de sangue para posterior determinação da presença de anticorpos anti-*Toxoplasma* através do teste de imunofluorescência indireta (RIFI).

Pesquisa de *C. baileyi* em tecidos de frangos necropsiados

Foram realizados, durante a necropsia, raspados de mucosa na traquéia, duodeno, jejuno, íleo, cecos, reto, bursa de Fabrício e cloaca, sendo os mesmos corados pela técnica da Safranina-Azul de Metileno (BAXBY *et alii*, 1984).

RESULTADOS

Nos grupos II, III, IV, V e VI foi observada diarreia com presença de fezes esverdeadas, com início 6 dias após a inoculação do *T. gondii* e duração de 6-7 dias. Duas aves (Grupo V e VI) morreram aos 12 e 11 dias da inoculação do *T. gondii*, após sintomas de apatia e dificuldade respiratória. Lesões macroscópicas estavam presentes somente na ave do grupo VI e se caracterizavam por aumento de volume e pontos brancos no baço e coração pálido com pontos brancos.

A pesquisa de surtos parasitêmicos nas aves inoculadas com o *T. gondii* demonstrou que todos os grupos inoculados apresentaram surtos que variaram de 3 até 28 dias após a inoculação (Tabela 2).

Os oocistogramas realizados em fezes de aves inoculadas com *C. baileyi* mostraram período pré-patente de 3 a 6 dias e período patente de até 18 dias. Houve uma grande variação no número total de oocistos eliminados entre os diferentes grupos (Figura 1).

Para avaliação dos parâmetros zootécnicos, foi feita a determinação do ganho de peso e da conversão alimentar dos diferentes grupos, observando-se uma tendência de um

Tabela 2 - Parasitemia em aves inoculadas experimentalmente, por via oral, com oocistos de *T. gondii* e/ou *C. baileyi*.

GRUPO	INOCULAÇÃO		PARASITEMIA (Idade das aves em dias)						
	Inóculo	Idade (dias)	20	26	29	33	38	42	49
I	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	21	-	-	-	-	-	-	-
II	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	21	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. gondii</i> 1x10 ³	30	-	-	-	pe*	ps**	-	pe
III	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	21	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. gondii</i> 1x10 ⁴	30	-	-	-	pe	-	pe	pe
IV	<i>T. gondii</i> 1x10 ³	21	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	36	-	pe	pe	pe	pe	ps	-
V	<i>T. gondii</i> 1x10 ⁴	21	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	36	-	pe	pe	pe	-	ps	ps
VI	<i>T. gondii</i> 5x10 ⁴	21	-	pe	pe	pe	-	-	-
VII	Testemunho	-	-	-	-	-	-	-	-

* Presença de taquizoitos na cavidade peritoneal ou cistos no cérebro de camundongos inoculados.

** RIFI para toxoplasmose positiva em camundongos inoculados.

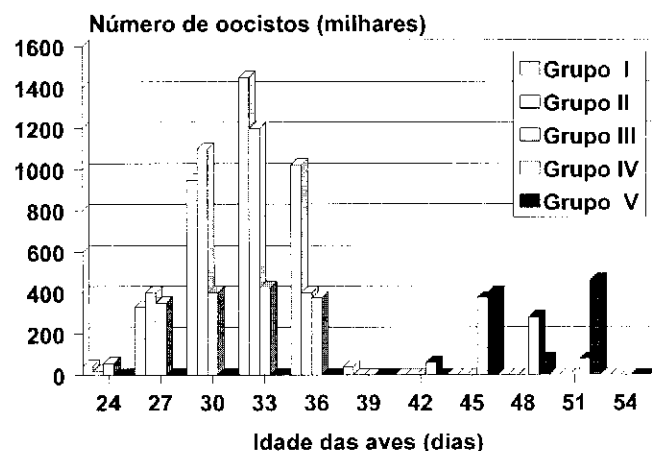


Fig. 1 - Oocistogramas de fezes de aves inoculadas experimentalmente com oocistos de *C. baileyi* e/ou do *T. gondii*

menor ganho de peso nas aves inoculadas com o *T. gondii*, sem alteração na conversão alimentar (Tabela 3).

Após a realização de necropsia, no final do período experimental, foram observadas lesões macroscópicas na bursa de Fabrício caracterizadas por atrofia (Grupo I - 1 ave) e presença de exsudato caseoso preenchendo sua luz (Grupo I - 1 ave, Grupo II - 2 aves e Grupo III - 3 aves). No baço foi encontrado aumento de volume em 2 aves (1 no Grupo I e outra no Grupo VI).

Tabela 3 - Ganho de peso e conversão alimentar em frangos de corte inoculados, via oral, com oocistos de *T. gondii* e/ou *C. baileyi*.

Grupo	Inóculo dose	Idade (dias)	Ganho de Peso (kg) (21 - 51 dias)	Conversão Alimentar (21 - 51 dias)
I	<i>C. baileyi</i> 1 x 10 ⁶	21	2,26 a*	2,08 a
II	<i>C. baileyi</i> 1 x 10 ⁶ <i>T. gondii</i> 1 x 10 ³	21 30	2,20 ab	2,07 a
III	<i>C. baileyi</i> 1 x 10 ⁶ <i>T. gondii</i> 1 x 10 ⁴	21 30	2,01 ab	2,12 a
IV	<i>T. gondii</i> 1 x 10 ³ <i>C. baileyi</i> 1 x 10 ⁶	21 36	1,96 ab	2,36 a
V	<i>T. gondii</i> 1 x 10 ⁴ <i>C. baileyi</i> 1 x 10 ⁶	21 36	1,90 b	2,17 a
VI	<i>T. gondii</i> 5 x 10 ⁴	21	1,97 ab	2,20 a
VII	CONTROLE		2,08 ab	2,21 a

* Valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Tukey (P < 0,05)

De cada ave necropsiada foram colhidos fragmentos de 16 órgãos, sendo o *Toxoplasma* isolado de 14 órgãos (Tabela 4).

Em tecidos de frangos necropsiados ao final do experimento, o *C. baileyi* não foi encontrado em nenhum dos órgãos examinados nos diferentes grupos experimentais.

DISCUSSÃO

Os resultados de ganho de peso (Tabela 3) mostram que o *Cryptosporidium* sozinho ou associado ao *Toxoplasma* não afetou o desempenho das aves infectadas. Os grupos inoculados com *Toxoplasma*, após infecção prévia pelo *Cryptosporidium* (II e III), apresentaram desempenho superior ao dos inoculados primeiramente com o *Toxoplasma* (IV e V), sendo que esses dois últimos apresentaram desempenho semelhante ao grupo inoculado somente com o *Toxoplasma* (VI), embora essa diferença seja estatisticamente significativa só no grupo V. Aparentemente houve uma tendência de uma infecção prévia pelo *Cryptosporidium* proteger contra uma infecção posterior pelo

Tabela 4 - Parasitismo tecidual por *T. gondii* em frangos de corte inoculados com oocistos deste parasito e/ou do *C. baileyi*, via oral.

Grupo	Inoculação		Órgãos													Total
	Inóculo	Idade (dias)	Cérebro	Coração	Retina	Rins	Músculo	Baço	Pâncreas	Proventrículo	Bursa	Moela	ID/Ceco	Fígado	Pulmão	
I	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶ <i>T. gondii</i> 1x10 ³	30	pe*	pe	ps**	pe	pe	pe	pe	pe	-	ps	ps	ps	ps	12
III	<i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶ <i>T. gondii</i> 1x10 ⁴	21 30	pe	pe	pe	ps	-	ps	-	pe	-	ps	-	-	ps	08
IV	<i>T. gondii</i> 1x10 ³ <i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	21 36	pe	pe	pe	pe	ps	ps	-	-	pe	pe	ps	-	ps	10
V	<i>T. gondii</i> 1x10 ⁴ <i>C. baileyi</i> 1x10 ⁶	21 36	pe	ps	pe	ps	ps	-	ps	ps	pe	pe	pe	ps	-	11
VI	<i>T. gondii</i> 5x10 ⁴	21	ps	pe	pe	ps	ps	ps	ps	pe	ps	pe	ps	ps	ps	13
VII	Controle		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total			05	05	05	05	04	04	03	04	03	05	04	03	04	

* Presença de taquizoítos no exsudato peritoneal ou cistos no cérebro de camundongos inoculados.

** RIFI para toxoplasmose positiva ≥ 1:64 em camundongos inoculados.

Toxoplasma, ou houve uma maior resistência das aves à infecção pelo *Toxoplasma* relacionada à idade, como verificado por ERICHSEN & HARBOE (1954). Os dados da conversão alimentar não diferiram significativamente entre os grupos.

Neste experimento foram observados sinais clínicos em todos os grupos inoculados com o *Toxoplasma*, além da morte de 2 aves. Os sinais apresentados e a baixa mortalidade são condizentes com a literatura, que relata desde surtos com alta mortalidade (NÓBREGA *et alii*, 1955), até a presença de infecções subclínicas (BICKFORD & SAUNDERS 1966). NÓBREGA *et alii* (1955) relataram a ocorrência de diarreia com presença de fezes esbranquiçadas; já no presente experimento foi encontrada diarreia com fezes esverdeadas.

As lesões encontradas no fígado e baço de uma ave morta, do grupo inoculado somente com o *Toxoplasma*, no decorrer do experimento, são compatíveis com descrições anteriores em infecções agudas por este parasito (BICKFORD & SAUNDERS 1966; NÓBREGA *et alii*, 1955). A presença de exsudato caseoso na bursa de Fabrício está relacionada à infecção pelo *Cryptosporidium* (MEIRELES *et alii*, 1994). As outras lesões encontradas como esplenomegalia, atrofia e hiperemia da bursa de Fabrício são inespecíficas, embora as duas últimas possam estar relacionadas à infecção pelo *Cryptosporidium*.

Na análise da eliminação de oocistos do *Cryptosporidium* (Figura 1), pôde-se observar que houve um maior período pré-patente e eliminação de um número menor de oocistos nas aves inoculadas aos 36 dias de idade, após a infecção pelo *Toxoplasma* (Grupos IV e V). Isso provavelmente se deve à uma proteção conferida por uma infecção prévia pelo *Toxoplasma* ou mesmo, a uma maior resistência das aves relacionada à idade, como já comprovado por LINDSAY *et alii* (1988) e TAYLOR *et alii* (1994). Talvez a inclusão de um grupo controle infectado somente com o *C. baileyi*, aos 36 dias de idade, pudesse esclarecer este fato.

Os dados da parasitemia (tabela 2) mostram que nos grupos com infecção prévia pelo *Cryptosporidium* (II e III) foi detectada parasitemia com 3, 8 e 19 dias após a inoculação do *Toxoplasma*, enquanto nos outros grupos com inoculação prévia pelo *Toxoplasma*, foi detectada com 5 até 29 dias após a inoculação do *T. gondii*. A infecção pelo *C. baileyi* aos 36 dias de idade nos grupos IV e V aparentemente prolongou o período de surtos parasitêmicos nestes grupos, já que o grupo inoculado somente com o *T. gondii* (VI) apresentou surtos somente até o 13º dia após a inoculação, sugerindo uma possível ação imunossupressora do *C. baileyi* ou mesmo uma ação sinérgica entre este para-

sito e o *T. gondii*, como foi sugerido por GUY *et alii* (1988) após infecção experimental com *C. baileyi* e reovírus e por NACIRI *et alii*, (1989) após infecção experimental com *Cryptosporidium* sp. e vírus vacinal e patogênico da doença de Marek.

O prolongamento do período experimental poderia esclarecer melhor se nas aves dos grupos II e III ocorreram surtos parasitêmicos mais prolongados. Além disso, a inclusão de um grupo controle inoculado somente com o *Toxoplasma* aos 30 dias indicaria, com mais segurança, se houve ou não influência da inoculação do *Cryptosporidium* aos 21 dias, na infecção pelo *T. gondii*, quando inoculado aos 36 dias de idade.

A detecção do *Toxoplasma* nos órgãos (Tabela 4) é compatível com os relatos encontrados na literatura (NÓBREGA *et alii*, 1955), com exceção de sua localização na bursa de Fabrício. Não houve diferença em sua localização entre os diferentes grupos. De todas as aves necropsiadas ao final do experimento, foram colhidos fragmentos de 16 órgãos, sendo o *Toxoplasma* isolado de 14 órgãos, entre os quais o cérebro, coração e moela. Esses achados, além do seu isolamento também no fígado e músculo esquelético, ressaltam a importância da galinha como fonte de infecção da Toxoplasmose humana, já que este parasito pode ser encontrado mesmo em criações industriais (ARAÚJO *et alii*, 1989), onde o acesso de gatos, hospedeiros definitivos do *T. gondii*, é limitado. Por estes resultados, pôde-se inferir também que a infecção pelo *Cryptosporidium* não interferiu na disseminação tecidual do *T. gondii* no organismo aviário.

SUMMARY

Broilers chickens were inoculated orally with *T. gondii* and *C. baileyi* oocysts, with variation in infective doses and age at inoculation for analysis of clinical signs, effects on growth performance and parasitologic parameters. The groups receiving *T. gondii* developed diarrhea with green faeces and 2 chickens died. Major lesions seen at necropsy in the groups receiving *C. baileyi* where caseous core filling the lumen of the bursa of Fabricius of some chickens, atrophy and hyperemia. *C. baileyi* didn't affect growth performance of inoculated chickens. All groups which received *T. gondii* oocysts showed lower growth performance when compared with other groups, although this difference isn't statistically significant. The groups receiving *C. baileyi* oocysts at 36 days of age shed lower number of oocysts than groups inoculated at 21 days of age. Parasitemia due to *T. gondii* was detected in chickens

inoculated previously with *C. baileyi* at 3, 8, 12 and 19 days post inoculation (DPI) of *T. gondii*, whereas in the other groups with previous inoculation with *T. gondii*, parasitemia was detected with 5, 8, 12 and 28 DPI. From tissues bioassayed individually in mice, *T. gondii* was isolated 54 times, as following: brain (5), heart (5), retina (5), kidney (5), striated muscle (4), spleen (4), pancreas (3), proventriculus (4), bursa de Fabricius (3), gizzard (5), small intestine/caecum (4) liver (3) and lung (4). Experimental infection with *C. baileyi* had no effect in *T. gondii* isolation.

KEY WORDS: *Cryptosporidium baileyi*, *Toxoplasma gondii*, broilers chickens.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; BIGATTI, L.E. (1989). Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em frangos abatidos para consumo humano em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, Porto Alegre, 17: p. 23-28.
- ARROWOOD, M.J.; STERLING, C.R. (1987). Isolation of *Cryptosporidium* oocysts and sporozoites using discontinuous sucrose and isopycnic percoll gradients. *J. Parasitol.*, 73: 314-319.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C.A. (1984). The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *J. Hyg.*, 93: 317-323.
- BICKFORD, A.A.; SAUNDERS, J.R. (1966). Experimental toxoplasmosis in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 27: 308-318.
- BIANCIFIORI, F.; RONDINI, C.; GRELLONI, V.; FRES-CURA, T. (1986). Avian toxoplasmosis: experimental infection of chickens and pigeon. *Comp. Immunol. Microbiol. Inf. Dis.*, 9: 337-346.
- BLAGBURN, B.L.; LINDSAY, D.S.; GIAMBRONE, J.J.; SUNDERMAN, C.A.; HOERR, F.J. (1987). Experimental cryptosporidiosis in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 66: 442-449.
- COSTA, A.J. (1979). Toxoplasmose congênita natural em bovinos e infecção experimental de vacas gestantes com oocistos de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909. São Paulo, Universidade de São Paulo, 88p. (Tese de Doutorado).
- DUBEY, J.P.; RUFF, M.D.; CAMARGO, M.F.; SHEN, M.D.; WILKINS, B.S.; KWOK, O.C.H.; THULLIEZ, P. (1993). Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am. J. Vet. Res.*, 54: 1668-1672.
- DUBEY, J.P.; SWAN, C.V.; FRENKEL, J.K.A. (1972). Simplified method for isolation of *T. gondii* from the feces of cats. *J. Parasitol.*, 5: 1055-1056.
- ERICHSSEN, S.; HARBOE, A. (1953). Toxoplasmosis in chickens. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 33: 56-71.
- ERICHSSEN, S.; HARBOE, A. (1954). Toxoplasmosis in chickens. I. Attempts to provoke a systemic disease with a chicken strain and a human strain of *Toxoplasma*. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 33: 495-502.
- GLISSON, J.R.; BROWN, T.P.; BRUGH, M.; PAGE, R.K.; KLEVEN, S.H.; DAVIS, R.B. (1984). Sinusitis in turkeys associated with respiratory cryptosporidiosis. *Avian Dis.*, 28: 783-790.
- GOODWIN, M.A. (1989). Cryptosporidiosis in birds - a review. *Avian Pathol.*, 18: 365-384.
- GOODWIN, M.A.; KRABILL, V.A. (1989). Diarrhea associated with small-intestinal cryptosporidiosis in a budgerigar and a cockatiel. *Avian Dis.*, 33: 829-833.
- GOODWIN, M.A.; STEFFENS, W.L.; RUSSEL, I. D.; BROWN, J. (1988). Diarrhea associated with intestinal cryptosporidiosis in turkeys. *Avian Dis.*, 32: 63-67.
- GUY, J.S.; LEVY, M.G.; LEY, D.H.; BARNES, H.J.; GERIG, T.M. (1987). Experimental reproduction of enteritis in bobwhite quail (*Colinus virginianus*) with *Cryptosporidium* and reovirus. *Avian Dis.*, 31: 713-722.
- GUY, J.S.; LEVY, M.G.; LEY, D.H.; BARNES H.G.; GERIG, T.M. (1988). Interaction of reovirus and *Cryptosporidium baileyi* in experimentally infected chickens. *Avian Dis.*, 32: 381-390.
- JACOBS, K.; MELTON, M.L. (1957). A procedure for testing meat samples for *Toxoplasma* with preliminary results of a survey of pork and beef sample. *J. Parasitol.*, 42: 38-39.
- JACOBS, L.; MELTON, M.L.; STANLEY, A.L.M. (1962). The isolation of *Toxoplasma gondii* from the ovaries and oviduct of naturally infected hens. *J. Parasitol.*, 48: 38.
- KEAN, B.H. (1972). Clinical toxoplasmosis - 50 years. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 66: 549-567.
- LEVY, M.G.; LEY, D.H.; BARNES, H.J.; GERIG, T.M.; CORBETT, W.T. (1988). Experimental cryptosporidiosis and infectious bursal disease virus infection of specific-pathogen-free chickens. *Avian Dis.*, 32: 803-811.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; SUNDERMANN, C.A.; GIAMBRONE, J.J. (1988). Effect of broiler chicken age on susceptibility to experimentally induced

- Cryptosporidium baileyi* infection. *Am. J. Vet. Res.*, 49: 1412-1414.
- MASON, R.W.; HARTLEY, W.J. (1980). Respiratory cryptosporidiosis in a peacock chick. *Avian dis.*, 24: 771-776.
- MEIRELES, M.V.; FIGUEIREDO, P.C. (1992). Isolamento e identificação do *Cryptosporidium baileyi* Current etalii, 1986 (Apicomplexa:Cryptosporidiidae) em frangos de corte. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 1,2: 125-130.
- MEIRELES, M.V.; PAULILLO, P.C.; SILVA, G.S.; GUOLO, F. (1994). Influência da infecção experimental pelo *Cryptosporidium baileyi* na performance zootécnica de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO 1994 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1994, Santos. Anais. FACTA, 1994, p. 75-76.
- MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P. (1972). Oral infection with *toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J. Parasitol.*, 58: 928-937.
- NACIRI, M.; MAZZELLA, O.; COUDERT, F. (1989). Interactions cryptosporidies-virus sauvage ou vaccinal de la maladie de Marek chez le poulet. *Rec. Méd. Vét.*, 65: 383-387.
- NÓBREGA, P.; TRAPP, E.; GIOVANNONI, M. (1955). Toxoplasmose espontânea da galinha. *Arg. Inst. Biol.*, 22: 43-49.
- SIRONI, G.; RAMPIN, T.; BURZONI, B. (1991). Cryptosporidiosis in game birds. *Vet. Rec.*, 129: 337-338.
- TAYLOR, M.A.; CATCHPOLE, J.; NORTON, C.C.; GREEN, J.A. (1994). Variations in oocysts output associated with *Cryptosporidium baileyi* infections in chickens. *Vet. Parasitol.*, 53: 7-14.
- THAM, V.L.; KNIESBERG, S.; DIXON, B.R. (1982). Cryptosporidiosis in quails. *Avian Pathol.*, 11: 619-626.
- TYZZER, E.E. (1929). Coccidiosis in gallinaceous birds. *Am. J. Hyg.*, 10:269-383.
- WHITTINGTON, R.J.; WILSON, J.M. (1985). Cryptosporidiosis of the respiratory tract in a pheasant. *Aust. Vet. J.*, 62: 284-285.
- ZAMAN, V. (1970). Morphology of *Toxoplasma* oocysts and its comparison with other cat coccidia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.*, 1: 329-335.

(Received 30 June 1995, Accepted 22 August 1995)