

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIA**

**DISSERTAÇÃO**

**A CODORNA JAPONESA (*Coturnix japonica*) COMO HOSPEDEIRO  
PARA *Cystoisospora felis* (WENYON, 1923) FRENKEL, 1977  
(APICOMPLEXA: CYSTOISOSPORINAE)**

**Janaína da Soledad Rodrigues**

**Seropédica, RJ**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIA**

**A CODORNA JAPONESA (*Coturnix japonica*) COMO HOSPEDEIRO  
PARA *Cystoisospora felis* (WENYON, 1923) FRENKEL, 1977  
(APICOMPLEXA: CYSTOISOSPORINAE)**

**Janaína da Soledad Rodrigues**

**Sob a orientação do Professor**  
Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes  
**Co-orientação de**  
Dr. Walter Flausino

Dissertação submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de **Mestre em**  
**Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias. Área Concentração  
Parasitologia Veterinária

**Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2010**

636.089696

R685c

T

Rodrigues, Janaína da Soledad, 1985-.  
A codorna japonesa (*Coturnix japonica*)  
como hospedeiro para *Cystoisospora felis*  
(Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa:  
Cystoisosporinae)/ Janaína da Soledad  
Rodrigues - 2010.  
68 f.: il.

Orientador: Carlos Wilson Gomes  
Lopes.

Dissertação (mestrado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias.

Bibliografia: f. 35-45.


1. Parasitologia veterinária - Teses.  
2. Gato - Gastroenterologia  
veterinária - Parasito - Teses. I.  
Lopes, Carlos Wilson Gomes, 1947-. II.  
Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

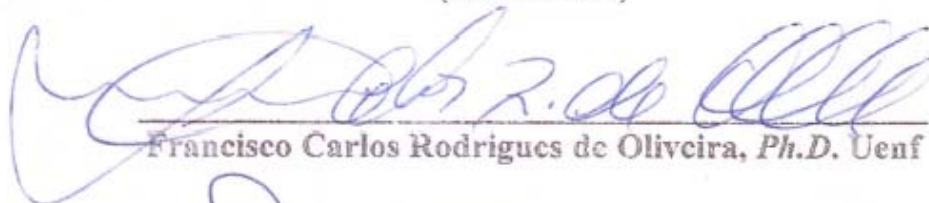
**Janaína da Soledad Rodrigues**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**,  
no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

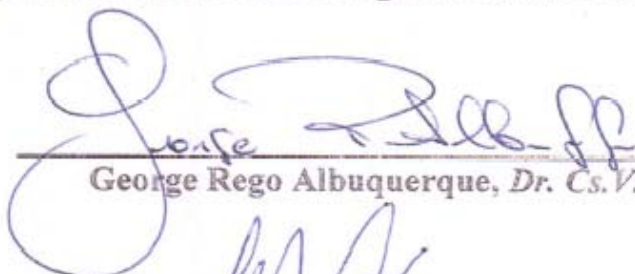
**DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24/02/2010**



Carlos Wilson Gomes Lopes, Ph.D., D.D. UFRRJ  
(Orientador)



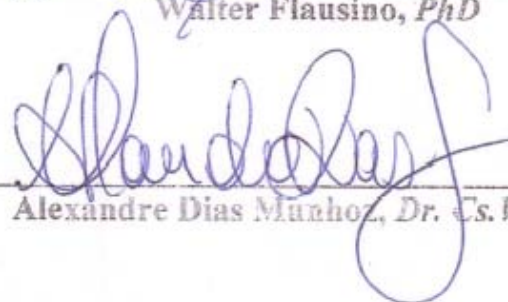
Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, Ph.D. Uenf



George Rego Albuquerque, Dr. Cs.Vs. Uesc



Walter Flausino, PhD



Alexandre Dias Munhoz, Dr. Cs.Vs. Uesc

## DEDICATÓRIA

*A Deus, que me dá forças para continuar seguindo.*

*A minha mãe, Léa, meu pai, Jair e ao meu noivo, Carlos Eduardo pelo amor incondicional e dedicação, que me serviram de alicerce para realização de mais essa etapa em minha vida.*

*A minha querida avó pelo exemplo de vida e aos meus tios e padrasto pelo carinho, apoio e incentivo.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que desde sempre, indiferentes às dificuldades, me deram as condições para realização dos meus sonhos e que sempre me serviram de exemplo de luta. Ao meu noivo Carlos Eduardo pela compreensão nos momentos de ausência e força nas horas difíceis. Aos meus familiares e amigos pelo suporte emocional e incentivo durante todos esses anos.

Ao Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes do Laboratório de Coccídios e Coccidioses – PSA (Embrapa:UFRRJ), Departamento de Parasitologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela orientação, amizade e dedicação, ao Dr. Walter Flausino pelo companheirismo e por todas recomendações e sugestões e ao Dr. Walter Leira Teixeira Filho pela ajuda e sugestões.

Ao amigo Paulo Roberto de Carvalho Filho pelo apoio, incentivo, amizade e confiança no início da minha caminhada no meio científico.

Aos colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses, os estagiários de graduação Roberto Laureano Melo e Natália Mello Pereira da Silva, a aos do Curso de Pós-Graduação Lianna Maria de Carvalho Balthazar, Gilberto Flausino, Bruno Pereira Berto e Sergian Vianna Cardozo, pela paciência e ajuda, e em especial as amigas Gisele Santos de Meireles e Landreani Ramirez Gonçalves por toda seriedade, acessoria e dedicação.

Aos amigos de graduação e pós-graduação Francisco de Assis Ribeiro e em especial à amiga Rafaella Câmara Teixeira pelo companheirismo e amizade durante toda nossa trajetória, desde a iniciação científica, tornando a caminhada até aqui mais agradável.

Aos meus cachorros Maradona (*in memorian*), Said e Nick, pelo amor incondicional e compreensão pela minha ausência em muitos momentos.

Ao CNPq pela ajuda financeira durante a realização deste trabalho.

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a formulação e conclusão deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

**Janáina da Soledad Rodrigues**, filha de Jair Antônio dos Santos Rodrigues e Léa Aparecida da Soledad Rodrigues, brasileira, nasceu em 10 de outubro de 1985, na cidade de Volta Redonda, Estado do Rio de Janeiro.

Iniciou sua formação profissional em abril de 2003, quando ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Em março de 2005 tornou-se bolsista de iniciação científica (CNPq/IC) no laboratório de Coccídios e Coccidioses-PSA (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, sob orientação do Professor Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes.

Após graduar-se em Medicina Veterinária em março de 2008, ingressou no mesmo mês no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Parasitologia Veterinária da UFRRJ.

*“Aquilo que pensamos saber, com  
frequência nos impede de aprender.”*

*Claude Bernard.*



## RESUMO

Rodrigues, Janaína da Soledad. **A codorna japonesa (*Coturnix japonica*) como hospedeiro para *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae)**. 2010. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

*Cystoisospora felis* é um parasito intracelular obrigatório que acomete felídeos de diversas espécies, que podem se contaminar tanto pela ingestão de oocistos esporulados, quanto pela ingestão de tecidos de hospedeiros intermediários infectados previamente com oocistos esporulados. Neste estudo, 10 codornas japonesas foram infectadas com um inoculo puro de oocistos esporulados de *C. felis* na concentração de  $1 \times 10^6$ , e após 60 dias, baço, fígado e bursa dessas codornas infectadas foram oferecidos a três filhotes de gato livres de infecção. Um quarto gato ainda foi infectado com uma suspensão de  $1 \times 10^6$  oocistos esporulados de *C. felis* por via oral. Após o início da eliminação, os oocistos foram colocados para esporular e, após a esporulação, 50 oocistos oriundos de cada infecção foram mensurados, tendo como médias de diâmetros maior (DM), menor (dm) e índice morfométrico os seguintes valores:  $44,30 \pm 2,30$ ,  $31,30 \pm 1,90$   $\mu\text{m}$  e  $1,40 \pm 0,1$  para os oriundos do animal infectado com fígado,  $46,30 \pm 2,20$ ,  $32,90 \pm 1,90$   $\mu\text{m}$  e  $1,40 \pm 0,1$  para os oocistos do animal infectado com baço,  $44,80 \pm 2,20$ ,  $31,20 \pm 1,60$   $\mu\text{m}$  e  $1,40 \pm 0,1$  para os oocistos oriundos do animal infectado com bursa e  $43,60 \pm 1,60$ ,  $30,80 \pm 1,60$   $\mu\text{m}$  e  $1,40 \pm 0,1$  para os oocistos do animal que recebeu oocistos por via oral. Ao analisar a distribuição da frequência dos valores dessas medidas, pude-se observar que quando a fonte de infecção utilizada foi fígado e baço, a distribuição foi mais homogênea, o que não ocorreu quando utilizou-se bursa cloacal ou oocistos esporulados como fonte de infecção. Com estes resultados foi possível concluir que não se observaram diferenças significativas na morfometria dos oocistos de *C. felis* independente da fonte de infecção. Além disso, os períodos pré-patente e patente foram semelhantes quando os gatos livres de infecção foram alimentados com vísceras de codornas, infectadas previamente com oocistos esporulados de *C. felis* em comparação com o animal que recebeu  $1 \times 10^6$  oocistos esporulados por via oral.

Palavras chave: *Cystoisospora felis*, ciclo biológico, infecção experimental, novo hospedeiro.

## ABSTRACT

Rodrigues, Janaína da Soledad. **The Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a host for *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae).** 2010. 68p. Dissertation (Master in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

*Cystoisospora felis* is an obligatory intracellular parasite that infecting felines of diverse species, that were contaminated by ingesting sporulated oocysts end/or intermediated host harboring monozoic cysts of this species. In this study, 10 Japanese quails were infected with a pure inoculum consisted by  $10^6$  sporulated oocysts of *C. felis*, after 60 days post infection, liver, spleen, and bursa of Fabricius were removed from each quail and they were given to feed to 3 kittens separately. A forth kitten was infected with  $10^6$  sporulated oocysts orally. After shedding oocysts by kittens, they were allowed to sporulate. After that, 50 sporulated oocysts of each infection were measured, having as means of Length, Width and Shape Index the following values:  $44.30 \pm 2.30$ ,  $31.30 \pm 1.90$   $\mu\text{m}$  and  $1.40 \pm 0.1$  from kitten fed on liver,  $46.30 \pm 2.20$ ,  $32.90 \pm 1.90$   $\mu\text{m}$  and  $1.40 \pm 0.1$  from kitten fed on spleen,  $44.80 \pm 2.20$ ,  $31.20 \pm 1.60$   $\mu\text{m}$  and  $1.40 \pm 0.1$  from kitten fed on bursa of Fabricius, and  $43.60 \pm 1.60$ ,  $30.80 \pm 1.60$   $\mu\text{m}$  and  $1.40 \pm 0.1$  from kitten infected with sporulated oocysts orally as well as *C. felis* prepatent and patent periods. By analyzing the frequency of the distribution of values was observed that when the source of infection were liver and spleen, the distribution was more homogeneous, which did not occur when was used cloacal bursa or sporulated oocysts as sources of infection. As conclusions in this work, there were no significant differences among de morphometry of the sporulated oocysts, independent of the source of infection. Moreover, the pre-patent and patent were similar when cats fed on infected viscera of quails experimentally infected with sporulated oocysts of *C. felis* previously when compared with the animal that received  $1 \times 10^6$  sporulated oocysts orally.

Keywords: *Cystoisospora felis*, life cycle, experimental infection, new host.

## LISTA DE TABELAS

	Págs.
<b>Tabela 1.</b> Comparação dos oocistos esporulados de <i>Cystoisospora felis</i> procedentes de diferentes fontes de Infecção.....	21
<b>Tabela 2.</b> Comparações morfológicas entre oocistos recuperados de diferentes fontes de infecção por diferentes autores.	23
<b>Tabela 3.</b> Eliminação de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> nas fezes por gatos infectados experimentalmente com parasitos de diferentes fontes de infecção.....	26

## LISTA DE FIGURAS

	Págs.
<b>Figura 1.</b> Oocisto esporulado de <i>Cystoisospora felis</i> . Solução saturada de açúcar 1.000X.	21
<b>Figura 2.</b> Retas de Regressão das medidas dos oocistos esporulados recuperados de cada fonte de infecção: fígado (a), baço (b), bursa de Fabricius (c) de codornas japonesas infectadas experimentalmente por via oral com $10^6$ oocistos esporulados e (d) oocistos obtidos a partir de infecção oral em gatos com $10^6$ oocistos esporulados.	22
<b>Figura 3.</b> Eliminação de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> por gatos alimentados com fígado (a), baço (b), bursa de Fabricius (c) de codornas japonesas e gato infectado experimentalmente por via oral com $10^6$ oocistos esporulados (d).	25
<b>Figura 4.</b> Distribuição dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com bursa cloacal de Codornas contendo cistos de <i>Cystoisospora felis</i> .	27
<b>Figura 5.</b> Distribuição dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com $10^6$ Oocistos de <i>Cystoisospora felis</i> .	28
<b>Figura 6.</b> Distribuição dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com Fígado de Codornas contendo cistos de <i>Cystoisospora felis</i> .	29
<b>Figura 7.</b> Distribuição dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com Baço de Codornas contendo cistos de <i>Cystoisospora felis</i> .	30

## LISTA DE ANEXOS

Págs.

- Anexo 1.** RODRIGUES, J. DA S.; MEIRELES, G.S.; CARVALHO FILHO, P.R.; RIBEIRO, C.T.; FLAUSINO, W.; LOPES C.W.G. *Sarcocystis cruzi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) no cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* v. 28, n. 11, p. 561-564, 2008..... 47
- Anexo 2.** MEIRELIES, G.S. DE; PAES-DE-ALMEIDA, E.C.; CARVALHO FILHO, P.R.; FLAUSINO, W.; RODRIGUES, J. DA S.; FERREIRA, A.M.R.; LOPES, C.W.G. Avaliação do intestino delgado e linfonodos mesentéricos de cães (*Canis Familiaris*) infectados experimentalmente com *Sarcocystis Cruzi* (Hasselman, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl. 1, p. 331-334, 2008..... 51
- Anexo 3.** RAMIREZ, L.; BERTO, B.P.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; FLAUSINO, W.; MEIRELES, G. S. DE; RODRIGUES, J. DA S.; ALMEIDA, C.R.R.; LOPES, C.W.G. *Eimeria bareillyi* from the domestic water buffalo, *Bubalus bubalis*, in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 31, n. 4, p. 261-264, 2009..... 55
- Anexo 4.** RODRIGUES, J. DA S.; MEIRELIES, G.S. DE; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. The Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a new intermediated host for *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, (Entregue para publicação sob o número RBPV 0062/2009)..... 59

## SUMÁRIO

	Págs
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	2
<b>2.1 A família Sarcocystidae Poche, 1913</b> .....	2
<b>2.2 O gênero <i>Cystoisospora</i> Frenkel, 1977</b> .....	2
<b>2.3. A espécie <i>Cystoisospora felis</i> (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977</b> .....	3
<b>2.4. Hospedeiros definitivos</b> .....	5
<b>2.5. Hospedeiros intermediários</b> .....	5
<b>2.6 A codorna como um novo hospedeiro intermediário de <i>Cystoisospora felis</i></b> .....	6
<b>2.7 Ciclo biológico</b> .....	6
<b>2.8 Distribuição sistêmica das espécies do gênero <i>Cystoisospora</i></b> .....	7
<b>2.9 Aspectos clínicos e patológicos da cistoisoporose felina</b> .....	8
<b>2.10 Epidemiologia</b> .....	9
<b>2.11 A Codorna japonesa</b> .....	11
<b>2.10.1. Classificação</b> .....	11
<b>2.10.2. Histórico</b> .....	11
<b>2.10.3 A codorna como animal de laboratório</b> .....	13
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
<b>3.1 Origem dos animais</b> .....	14
<b>3.1.1. Codornas</b> .....	14
<b>3.1.2. Gatos</b> .....	14
<b>3.2 Localização do trabalho experimental</b> .....	15
<b>3.2.2 Baías</b> .....	15
<b>3.3 Preparação do inóculo de oocistos de <i>Cystoisospora felis</i></b> .....	15

3.4 Inoculação das codornas japonesas.....	16
3.5 Eutanásia dos animais.....	16
3.6 Infecção dos gatos com vísceras de codornas japonesas infectadas e com oocistos esporulados de <i>C. felis</i> .....	17
3.7 Determinação dos períodos pré-patente e patente.....	17
3.8 Contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG)	17
3.9 Esporulação e mensuração dos oocistos.....	18
3.10 Histologia.....	18
3.11 Avaliações estatísticas.....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
4.1 A codorna como um novo hospedeiro intermediário para <i>Cystoisospora felis</i> .....	20
4.2 Aspectos Clínicos dos animais.....	20
4.3 Morfologia dos oocistos esporulados de <i>Cystoisospora felis</i> .....	21
4.4 Curvas de eliminação dos oocistos de acordo com a fonte de infecção..	24
4.5 Análise dos Histogramas.....	28
4.6 Análise Histológica.....	33
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>35</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>46</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A família Sarcocystidae Poche, 1913 é uma das famílias mais estudadas da subordem Eimeriorina Leger, 1911, na qual estão incluídos indivíduos do Filo Apicomplexa Levine, 1970, coccídios parasitas do intestino delgado de cordados. Esta família tradicionalmente abrange espécies bem estudadas, como *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909, *Neospora caninum* Dubey et al., 1988, *Hammondia hammondii* Frenkel e Dubey, 1975; *H. heydorni* (Tadros e Laarman, 1976) Dubey, 1977, espécies do gênero *Sarcocystis* Lankester, 1882; espécies do gênero *Besnoitia* Henry, 1913 e finalmente as espécies do gênero *Cystoisospora* Frenkel, 1977.

Uma das peculiaridades desta família é possuir ciclo heteroxeno obrigatório ou facultativo, onde a relação presa-predador entre os hospederios vetebrados seria a vertente mais importante para o fechamento do ciclo biológico. As formas nos hospedeiros intermediários são apenas proliferativas ou de desenvolvimento trófico, mas contribuem de maneira substancial para a manutenção e a transmissão desses parasitos entre vertebrados.

*Cystoisospora* é um dos gêneros desta família mais recentemente inclusos na família Sarcocistidae, tendo sido descrito no final da década de 70. Talvez por esse motivo, ainda são poucos os hospedeiros intermediários que participam de sua dispersão, em especial para a espécie *C. felis*, que possui um ciclo biológico muito semelhante ao de *Toxoplasma gondii*.

O objetivo deste trabalho foi comprovar a capacidade das codornas japonesas de servirem como hospedeiros intermediários de *C. felis*, para tanto foram estudadas algumas das características biológicas e morfométricas desta espécie, bem como ainda avaliar o tropismo da distribuição sistêmica dos hipnozoítos nos órgãos das codornas japonesas a partir de infecção experimental.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A família Sarcocystidae Poche, 1913

Membros desta família tiveram até pouco tempo uma fase obscura sobre a sua real classificação. Espécies do gênero *Sarcocystis*, *Besnoitia* e *Toxoplasma* antes do final da década de 60 e início da de 70 só se conheciam as suas formas císticas e algumas proliferativas para *T. gondii* o que os colocavam em classificação duvidosa (SMITH, 1981). Com a caracterização de formas merogônicas e císticas no hospedeiros intermediários e a formação de oocistos oriundos de fases sexuadas nos hospedeiros definitivos foram inicialmente elucidadas por Dubey et al. (1970) e Fayer e Johnson (1973). Além disso, seus oocistos quando esporulados eram dispóricos tetrazóicos e tinham em substituição ao corpo de stieda, fraturas na parede dos esporocistos (BOX et al., 1980). Desta maneira, foram todos classificados como heteróxenos com formas merogônicas e císticas em vertebrados que participavam da cadeia alimentar de carnívoros e onívoros. Estes últimos seriam responsáveis pela produção de oocistos que seriam eliminados nas fezes (ODENING, 1998). Servindo assim, como fonte de infecção para novos vertebrados herbívoros e onívoros (SMITH, 1981). Com base nesse conhecimento, outros gêneros foram incluídos nesta família como *Neospora* (MUGRIDGE et al., 2000) e outras espécies em *Cystoisospora* (SAMARASUNGHE et al., 2008).

### 2.2 O gênero *Cystoisospora* Frenkel, 1977.

Este gênero foi descrito primeiramente como *Isospora* por Schneider em 1881 e sua taxonomia tem gerado controvérsia desde então. Entre 1972 e 1979, uma série de estudos foi conduzida, tendo como resultado marcante a capacidade de *I. felis* e *I. rivolta* em formar cistos monozóicos em hospedeiros intermediários, em especial, nos linfonodos mesentéricos de roedores (DUBEY; FRENKEL, 1972, FRENKEL; DUBEY, 1972, DUBEY, 1979). Frenkel, em 1977, aproveitando os resultados obtidos, incluiu ambas as espécies em um novo gênero, *Cystoisospora*, alocando nele as espécies de *Isospora* encontradas em cães e gatos, a respeito das quais, até aquele momento, já se conhecia a capacidade em formar cistos monozóicos em hospedeiros intermediários e a capacidade destes de serem infecciosos para seus hospedeiros definitivos.

Este novo gênero foi inicialmente alocado na família Eimeriidae, baseado no fato de seu ciclo homoxeno ser muito similar aos das espécies de *Eimeria* (LEVINE, 1988). Contudo, estudos usando análises filogenéticas do gene rRNA 18S mostraram que o gênero *Cystoisospora* é mais próximo dos gêneros *Toxoplasma*, *Neospora* e *Sarcocystis* que ao gênero *Eimeria*, indicando que melhor seria que o gênero *Cystoisospora* fosse incluído na família Sarcocistidae, juntamente com coccídios formadores de cistos (CARRENO et al., 1998; FRANZEN et al., 2000; SAMARASINGHE et al., 2008). Outro detalhe que chama atenção seria a ausência de corpo de Stieda e a presença de fraturas nos esporocistos de oocistos de espécies do gênero *Cystoisospora*, que os aproxima das espécies da família Sarcocystidae. Desta maneira, além das já inclusas como espécies do Gênero *Cystoisospora*, *C. felis* e *C. rivolta* do gato e *C. canis* e *C. ohioensis* do cão, foram acrescentados a este gênero as espécies *C. belli*, antiga *I. belli* do homem e *C. suis*, antiga *I. suis* de suínos (SAMARASINGHE et al., 2008).

Além disso, Barta et al. (2005) atribuíram que todos os oocistos dispóricos, tetrazóicos de mamíferos sem corpo de Stieda em seus esporocistos fossem alocados no gênero *Cystoisospora* e todos oocistos também dispóricos, tetrazóicos de pássaros porém com corpo de stieda em seus esporocistos, pertenceriam ao gênero *Isospora*.

### **2.3. A espécie *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977.**

Esta espécie faz parte da família Sarcocystidae, subfamília Cystoisosporinae, sendo capaz de infectar vários hospedeiros homeotérmicos (SMITH, 1981). *Cystoisospora felis* é um parasito intracelular obrigatório e pode desenvolver ciclo heteroxenico facultativo e apresentar formas extra-intestinais caracterizadas por hipnozoítas em cistos monozóicos e estes podem estar localizados em várias vísceras de hospedeiros intermediários. A infecção em felídeos ocorre de maneira acidental a partir da ingestão de oocistos esporulados assim como vísceras contendo hipnozoítos (DUBEY; FRENKEL, 1972).

O coccídeo intestinal *C. felis* já foi alocado inúmeras vezes entre diferentes táxons da árvore taxionômica zoológica desde a sua primeira observação até o presente. Até hoje, a sua denominação ainda causa discussão. No entanto, evidências biológicas, imunológicas e moleculares, têm pesado sobre as antigas classificações muitas vezes ainda utilizadas.

A espécie *C. felis* remonta dos primeiros achados de formas ovóides nas fezes de cães e gatos, as então chamadas psorospermas oviformes ou coccídios. Nesse tempo, tinha-se a

idéia de que cães e gatos compartilhavam as mesmas espécies de coccídios, podendo infectar seus respectivos tratos gastrointestinais. Assim, *C. felis* baseia-se nos estudos de Grassi (1879) sobre *Coccidium rivolta* do gato, nos de Stiles (1891) acerca de *C. bigeminum* do cão e nos de Wasielewski (1904) sobre *Diplospora bigemina*. Grassi (1879) descreveu a espécie *C. rivolta* do gato doméstico que foi redenominada como *Isospora rivolta* a partir da criação do gênero *Isospora*, em 1881. Em estudos desenvolvidos por Wasielewski em 1904, este descreve dois coccídios que a época o próprio pensou que se tratava de uma única espécie, com mensurações similares as de *C. rivolta* descritas previamente por Grassi e a futura espécie *I. felis*. Porém, pelo fato de considerar as formas como pleomorfa da espécie por ele descrita, *D. bigemina*, Wasielewski faz com que o seu achado se torne *nomen nudum*. Wenyon (1923) denominou de *I. felis* a espécie de *Isospora* com grandes oocistos eliminados nas fezes de gatos. Entretanto, Marotel (1921) havia descrito dois anos antes de Wenyon (1923), como *I. cati* o coccídio intestinal com grandes oocistos eliminados nas fezes de gatos (WENYON, 1926). Finalmente, Frenkel (1977) descreveu o gênero *Cystoisospora*, sendo este proposto formalmente para todas as espécies de *Isospora* que infectam mamíferos. A nomenclatura para o gênero *Cystoisospora* só foi adotada pela lei da prioridade, pois no mesmo ano, Dubey (1977), descreveu o mesmo parasito adotando o gênero *Levineia*, contudo esta foi considerada como sinonímia para o gênero *Cystoisospora*.

A evidência de que cães e gatos compartilhassem mesmas espécies de *Isospora* começou a ser desconsiderada a partir do trabalho de Nemesèri (1960), onde foi observada a especificidade de *I. felis* para felídeos, dando subsídios para a criação da espécie *I. canis*, que compartilha semelhanças morfométricas com a anterior porém com oocistos ovóides em vez de piriformes, como se observa para *I. felis*.

Utilizando-se a classificação mais recente, a espécie *C. felis* se encontra alocada, seguindo as propostas apresentadas por Frenkel (1977), Smith (1981) e Corliss (1994):

Império: Eukaryota Corliss, 1994

Reino: Protozoa Goldfuss, 1818

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Sporozoea Leuckart, 1879

Subclasse: Coccidia Leuckart, 1879

Ordem: Eucoccidiidae Leger e Duboscq, 1910

Subordem: Eimeri(or)ina Leger, 1911

Família: Sarcocystidae Poche, 1913

Subfamília: Cystoisosporinae Smith, 1981

Gênero: *Cystoisospora* Frenkel, 1977

Espécie: *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977

#### **2.4. Hospedeiros definitivos**

Felídeos domésticos e silvestres são hospedeiros definitivos dessa espécie (HITCHCOCK, 1955; AMARAL et.al., 1966; SHAH, 1971; PATTON; RABINOWITZ, 1994), sendo observado até o momento diversas espécies de felinos consideradas como passíveis de se infectar com este parasito, sendo descrito como hospedeiro desta espécie a onça-pintada (*Panthera onca*) por Barreto e Almeida (1937), a suçuarana (*Puma concolor*) por Amaral et al. (1966), o leopardo (*P. pardus*), tigris (*P. tigris*), o leopardo nublado (*Neofelis nebulosa*) estes por Patton e Rabinowitz (1994), o gato-selvagem-europeu (*F. silvestris*), a jaguatirica (*Leopardus pardalis*), o serval (*Leptailurus serval*), o lince (*Lynx lynx*), o leão (*P. leo*), o tigre (*P. tigris*) e o gato-leopardo (*Prionailurus bengalensis*) por Duszynski et al. (2000). Porém, o hospedeiro tipo da espécie é o gato domesticado (*Felis catus*), por ter sido nele a primeira descrição de *I. felis* nas fezes.

#### **2.5. Hospedeiros intermediários**

Vários animais vêm sendo descritos como hospedeiros intermediários de *C. felis*, sendo esses capazes de transmitir a infecção para felídeos através do carnivorismo. Entre esses hospedeiros intermediários pode-se citar: camundongos, ratos, cães (FRENKEL; DUBEY, 1972), cobaios (HERZOG et al., 1993), pássaros (LINDSAY; BLAGBURN, 1994), bovinos (FAYER; FRENKEL, 1979), suínos (CARVALHO FILHO et al., 2003), coelhos (COSTA; LOPES, 1998), gerbis da Mongólia (CARVALHO FILHO et al., 2004) e frangos (MASSAD et al., 2002).

De acordo com Levine (1985) os cistos monozóicos podem ser encontrados principalmente em órgãos ligados ao sistema linfático, como linfonodos, baço e fígado e também, ocasionalmente na musculatura.

Os órgãos extra-intestinais de gatos infectados são igualmente parasitados, porém em uma taxa muito menor de multiplicação e os hipinozoítos são de difícil observação histológica (DUBEY; FRENKEL, 1972).

*Cystoisospora felis* pode ser considerada patogênica para camundongos neonatos. Estes, quando inoculados por via intraperitoneal com  $10^3$  esporozoítas de *C. felis*, podem causar a morte de 100% dos animais em apenas quatro dias. Por outro lado, quando  $10^6$  macrófagos de peritônio de camundongos adultos pré-inoculados com esporozoítas de *C. felis* foram inoculados em camundongos neonatos, todos os animais vieram a óbito 12 dias após inoculação (FREIRE; LOPES, 1995), do mesmo modo que interfere no ganho de peso de camundongos infectados por via oral com oocistos esporulados (LOSS; LOPES, 1992a).

## **2.6 A codorna como um novo hospedeiro intermediário de *Cystoisospora felis***

Ciclos biológicos de parasitos em que há o envolvimento de hospedeiros intermediários estão em constante adaptação, e a criação de aves e mamíferos de forma associada, passíveis de infecção contribuem para o aparecimento de novos hospedeiros (RUFF, 1999). Sendo assim, muitas aves, sejam silvestres ou domesticadas, servem como hospedeiros intermediários, principalmente por serem em sua maioria, animais predados e por isso, albergam formas císticas de muitos parasitos, que ficam alojadas nos tecidos dessas aves, muitas vezes de maneira assintomática, o que facilita a disseminação do parasito no meio ambiente, como já foi constatado por Peixoto e Lopes (1991) para frangos naturalmente infectados com *T. gondii* no município de Seropédica, Rio de Janeiro. Neste caso, podem comportar-se como animais sentinela, por albergarem formas císticas teciduais, já que vivem livres a campo.

## **2.7 Ciclo biológico**

Tanto felinos quanto os hospedeiros intermediários podem se infectar após a ingestão de oocistos esporulados, com esporozoítas viáveis em seu interior. Após a ingestão de oocistos esporulados ou de cistos monozóicos de *C. felis*, o parasito multiplica-se extensivamente no intestino delgado dos felinos, produzindo três gerações merogônicas e uma gametogonia (SHAH, 1971; LOSS 1991).

Os oocistos de *C. felis* são eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos na forma não esporulada, a exemplo dos indivíduos da subfamília Toxoplasmatinae e Cystoisosporinae, tornando-se esporulados em condições ótimas de temperatura, umidade e oxigenação em um período médio de 48 horas após contato com o meio ambiente (SHAH, 1971).

A ingestão de vísceras contendo as formas de resistência extra-intestinais pelo hospedeiro definitivo faz com que o ciclo se processe como ocorreria com a ingestão de oocistos esporulados em período pré-patente ligeiramente menor do que com a infecção por oocistos esporulados (DUBEY; FRENKEL, 1972, FRENKEL; DUBEY, 1972).

## **2.8 Distribuição sistêmica das espécies do gênero *Cystoisospora***

As formas latentes, cistozoítas ou hipnozoítas, em tecido extraintestinal dos hospedeiros intermediários (DUBEY; FRENKEL, 1972) não só lhes tem assegurado a sobrevivência, mas também se constituem em importante meio de dispersão deste parasito, uma vez que os cistos permanecem viáveis por um longo período e ainda podem permanecer infectantes por varias semanas após a morte do hospedeiro (FAYER, 1980).

A distribuição sistêmica dos hipnozoítas nas diferentes vísceras avaliadas e nos hospedeiros intermediários até agora estudados indica um tropismo mais acentuado por linfonodos mesentéricos, baço, fígado e placas de Payer (FRENKEL; DUBEY, 1972; BRÖSIGKE et al., 1982; FREIRE; LOPES, 1996; COSTA; LOPES, 1997).

Oliveira-Silva (2006) ao cultivar esporozoítas livres de *C. belli* em diferentes tipos celulares observou que este tinha capacidade de penetrar e se multiplicar em todos os tipos celulares utilizados, apesar de não terem sido observados formas reprodutivas, como macro e micogametócitos. Apesar de toda a reprodução endogênica deste parasito ocorrer em células epiteliais do intestino delgado (LINDSAY et al., 1997), em pacientes severamente imunocomprometidos, cistos monozóicos já foram observados em linfonodos, no baço, fígado e na lâmina própria do intestino delgado do mesmo hospedeiro (FRENKEL et al., 2003).

O cisto monozóico de *C. felis* se caracteriza como sendo um vacúolo parasitóforo simples, sem a existência de uma parede cística, típica de cistos de *T. gondii* e aderido a uma camada de material granular eletro-denso (MEHLHORN; MARKUS, 1976).

A denominação hipnozoítas foi proposta por Levine (1985). E, desde então, o nome tem sido mais utilizado com para esta forma evolutiva, como já vinha sendo utilizado para as

formas hepáticas de resistência em espécies do gênero *Plasmodium* Marchiafava e Celli, 1885.

Dubey (1979) observou que a musculatura esquelética de camundongos inoculados com oocistos de *C. rivolta* induzia a eliminação de oocistos deste coccídio por gatos. Entretanto, o mesmo autor não identificou nenhuma forma do parasito na musculatura através de histologia ou de impressão de órgãos. Costa e Lopes (1998), utilizando a técnica de digestão péptica em tecidos de coelhos experimentalmente infectados com oocistos de *C. felis*, constataram a presença de hipnozoítos no fígado, baço, linfonodos mesentéricos e placas de Peyer, sem identificá-los na musculatura esquelética.

Na década de 1980, técnicas de digestão enzimática de tecidos possibilitaram observar e isolar hipnozoítos do interior de células parasitadas. A digestão trípica de tecidos foi uma das primeiras utilizadas para isolamento desta forma evolutiva (HEINE, 1981, BRÖSIGKE et al., 1982). Entretanto, a digestão trípica tende a causar maiores danos aos hipnozoítos e, com o advento da digestão péptica de tecidos, uma quantidade maior de formas extra-intestinais pôde ser recuperada e isolada de tecidos de hospedeiros intermediários (FREIRE; LOPES, 1996, DUBEY, 1998, COSTA; LOPES, 1998, OLIVEIRA et al., 2001).

## **2.9 Aspectos clínicos e patológicos da cistoisporose felina.**

A cistoisporose felina é uma enterite que acomete principalmente animais jovens, com sinais clínicos discretos, marcados por diarreia com muco, desidratação, emagrecimento e pelos arrepiados (SHAH, 1971, LOSS; LOPES, 1992b). Ao infectar felinos jovens com  $10^5$  oocistos esporulados de *C. felis*, Tomimura (1957) verificou severa diarreia, anorexia, emagrecimento, anemia, elevação da temperatura e perda de peso, enquanto que Hitchcock (1955) não conseguiu reproduzir os sintomas de enterite, desidratação e diarreia ao infectar felinos jovens com  $10^5$  oocistos de *C. felis*. Loss (1991) observou que filhotes naturalmente infectados apresentavam sinais clínicos de diarreia, algumas vezes associada à desidratação, pelos arrepiados e, em alguns casos, vindo a óbito.

Ainda, de acordo com Hitchcock (1955), apenas duas gerações de merontes se desenvolveriam no epitélio da mucosa intestinal de felinos infectados por *C. felis*. A terceira geração de merontes identificada por Shah (1971) é similar à segunda identificada por Hitchcock (1955). Shah (1971) observou, entre as duas gerações identificadas previamente por Hitchcock (1955), uma forma merogônica que seria originada sem a exteriorização dos

merozoítas de segunda geração à luz intestinal e que se multiplicaria por processo de endopoligenia.

As lesões macroscópicas não são bem identificadas, a não ser a expressiva quantidade de muco, entretanto, à histopatologia, observa-se a perda de epitélio da mucosa do intestino delgado, em especial do íleo, hiperemia da lâmina própria, infiltrado neutrofílico moderado e aumento das células caliciformes em áreas íntegras da mucosa intestinal, sendo muitas dessas lesões irreversíveis em infecções com grande número de parasitos (SHAH, 1971; LOSS; LOPES, 1992).

Não há evidências concretas da existência de uma relação direta entre doenças imunossupressoras como a síndrome da imunodeficiência felina e a leucemia viral felina, e a eliminação de oocistos de *T. gondii*, *C. felis* ou *C. rivolta* nas fezes de gatos (LIN et al., 1990).

## 2.10 Epidemiologia

A infecção por *C. felis*, assim como *C. rivolta* não podem ser transmitidas pela via transplacentária em infecções crônicas (DUBEY, 1977), o que os faz diferentes de muitos dos coccídios da família Sarcocistidae, no caso *T. gondii* e *Neospora caninum* Dubey et al., 1988 (BARBER; TREES, 1998, DUBEY; FRENKEL, 1998, HIETALA; THURMOND, 1999). Mesmo sem utilizar esta estratégia epidemiológica, as espécies do gênero *Cystoisospora* apresentam alta dispersão entre os hospedeiros definitivos; mais alta até mesmo do que coccídios que utilizam a transmissão transplacentária para transitar verticalmente entre seus os hospedeiros vertebrados.

Além disso, evidências recentes têm demonstrado que o carnivorismo possui maior impacto na dispersão de oocistos por parte dos hospedeiros definitivos do que a ingestão de oocistos esporulados (CARVALHO FILHO et al., 2003; MASSAD et al., 2009). A exemplo de *T. gondii*, é possível que a ingestão de formas teciduais possa promover um maior risco para os hospedeiros definitivos no meio ambiente em que vivem.

Dubey (1993) afirmou que praticamente todo gato extra-domiciliado estava ou estaria eliminando oocistos do gênero *Cystoisospora*, de modo que, virtualmente, todo gato tornar-se-ia infectado por coccídios deste gênero, em especial por *C. felis*. Esta afirmativa foi confirmada por Loss (1991) por observar que gatos de rua quando mantidos em gaiolas por mais de dois dias, mesmo negativos foram capazes de eliminar oocistos de *C. felis* em suas



fezes. Esta última colocação indicou que animais supostamente negativos ao exame de fezes podem ser portadores do parasito e quando submetido a um fator estressante para eliminar oocistos em suas fezes. Considerações estas podem ser observadas em Fayer (1980) quando discute sobre fatores de diapausa.

Nichol et al. (1981), ao avaliar os parasitos encontrados nas fezes de 92 gatos silvestres provenientes de cinco regiões da Inglaterra, encontraram 4,3% de positividade para *C. felis*. Em nenhuma das amostras de fezes estudadas foram encontrados oocistos de outros coccídios.

Em 96 amostras de fezes coletadas de gatos em clínicas veterinárias particulares, hospitais-escola e vários criadores em Taiwan, 3,1% das amostras foram positivas para *C. felis* e 5,2% para *C. rivolta* (LIN et al., 1990). Quando em um estudo epidemiológico não-aleatório foram analisadas fezes de gatos de rua oriundos de várias áreas da Bélgica, a frequência de animais positivos para coccídios do gênero *Cystoisospora* foi de 30%, sendo 10% dos exames positivos para *C. rivolta* e 20% positivo para *C. felis* (VANPARIJS et al., 1991), no entanto, não se deve esquecer de que, nesse estudo, apenas uma coleta de material foi feita, diminuindo em muito a chance de se encontrar estes coccídios, já que os felinos devem ser avaliados durante o período de patência para ser considerado como positivo.

Outro estudo sobre inquérito parasitológico em gatos de Hannover e de suas imediações, na Alemanha, 932 amostras de fezes, 505 de gatos da área urbana e 427 da área rural foram pesquisadas, tendo sido observado em 2,0% das amostras oocistos de *C. rivolta* sendo de 1,0% na área urbana e de 3,3% na área rural, e em 1,9% oocistos de *C. felis* de 1,8% na área urbana e de 2,1% na área rural (MUNDHENKE; DAUGSCHIES, 1999). Um estudo anterior realizado em três cidades da mesma Alemanha, porém na região da Turingia e da Saxônia, revelou resultados muito diferentes dos encontrados posteriormente em Hannover. Neste, oocistos de *C. felis*, *C. rivolta* e *T. gondii* estavam presentes respectivamente em 17%, 13% e 3,6% das análises fecais realizadas em um total de 111 gatos não-domiciliados (RASCHKA et al., 1994). Observa-se que as frequências desses coccídios nas fezes de felinos domesticados variam em muito, mesmo em se tratando de regiões próximas, possivelmente possa estar relacionado ao tipo de hospedeiro intermediário predado ou as condições ambientais existentes.

Gennari et al. (1999) ao analisar 187 amostras de fezes de gatos de diferentes idades, domiciliados, porém sendo a maioria deles com livre acesso à rua, durante os anos de 1991 a 1995 e tendo como universo, diferentes regiões da cidade de São Paulo. A presença de

endoparasitos nas amostras fecais foi determinada em 95,72%. Dos animais examinados. Oocistos de *Cystoisospora* foram os mais frequentes, presentes em 38,5% das amostras de fezes avaliadas. É claro que o presente trabalho não reflete a realidade da ocorrência de oocistos de coccídios do gênero *Cystoisospora* em fezes de felinos, porém oferece um forte indicativo da ocorrência deste protozoário no grupo de felinos domiciliados, porém com livre acesso à rua.

Um estudo realizado no município de Campos dos Goytacazes no estado do Rio de Janeiro indicou que 42,42% dos gatos errantes capturados pelo Serviço de Controle de Zoonoses local nos três primeiros meses de 2002, 14 de 33 animais, estavam em plena eliminação de oocistos de *C. felis* ou entrariam em eliminação nos 15 dias sucedidos à captura, concluindo que o estresse da captura sofrido pelos animais exacerbaria a infecção, sendo responsável por uma outra eliminação (SANTOS et al., 2002), fato este, já observado anteriormente por Loss (1991) e indicado previamente por Fayer (1980) ao discutir sobre fatores de diapausa.

## **2.11 A Codorna japonesa**

### **2.11.1 Classificação**

Segundo os dados apresentados pelo Museu Nacional de História Natural do Instituto Smithsonian no distrito de Columbia, EUA. (SMITHSONIAN, 2009), a classificação seria:

Ordem: Galliformes

Família: Phasianidae

Sub Família: Perdicinae

Gênero: *Coturnix*

Espécie: *C. japônica*

### **2.11.2 Histórico**

A codorna japonesa pertence ao grupo dos galináceos, que com aproximadamente 70 gêneros, é um dos mais ricos em espécies. No gênero *Coturnix*, a maioria das espécies é nativa da Eurásia, sendo as mais conhecidas *C. japônica* ou codorna japonesa e *C. coturnix* ou codorna cinzenta. A primeira pode ser encontrada no inverno na Tailândia, Indochina e

Formosa, regressando para a Ilha Sacalina na Federação Rússia e ao arquipélago nipônico durante a primavera. Já a codorna cinzenta ou selvagem, é também natural da Eurásia, emigrando para o Oriente Próximo, Índia e África durante o inverno (CORRADELO, 1990).

Os primeiros arquivos da domesticação desta ave datam do início do século XII, no Japão, porém segundo Fah (2003), esta ave teria sido levada da China para o Japão por volta do século XI. Com a domesticação, as codornas perderam suas qualidades de ave de caça, principalmente com a atrofia das asas, o que impossibilitou o vôo e fazendo com que elas perdessem sua tendência migratória. Os japoneses, a partir de 1910, iniciaram estudos e cruzamentos entre codornas, oriundas da Europa e espécies selvagens, obtendo-se assim, um tipo domesticado, *C. japônica*, que passou a ser difundida em diversas regiões do Japão, principalmente por suas características produtivas, como excelente carne e ovos, e por ser própria para pequenas gaiolas e produção em série. Graças a sua alta fertilidade, abundante postura de ovos e exigência de pouco espaço para o seu confinamento, mais a facilidade de transporte, a codorna tornou-se uma das principais fontes de alimentação para os vietnamitas durante a guerra contra os EUA. Sua utilização na Europa se deu por volta de 1940, sendo introduzida nos EUA em meados de 1950 (HOWES, 1964).

No Brasil, a criação de codornas é relativamente recente, quando foram trazidas por imigrantes italianos e japoneses na década de 50. Atualmente, apresenta uma ampla distribuição pelo País, e embora se pareça com as codornas selvagens aqui existentes, não pertencem à mesma família, pois *Nothura boraquira*, encontrada no Nordeste, *N. minor*, encontrada na região central, e *N. maculosa*, que habita os campos do Sul desde o Rio Grande do Sul até os Estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo e Espírito Santo no Brasil pertencem à família Tinamidae.

A criação de codornas, coturnicultura, tem apresentado um crescimento bastante acentuado no País nos últimos tempos. Os principais fatores que contribuem para isso são: o excepcional sabor exótico de sua carne, responsável por iguarias finas e sofisticadas; o baixo custo para implantar uma pequena criação, podendo se tornar uma fonte de renda complementar dos pequenos produtores rurais. Do lado técnico-econômico, torna-se ainda mais atrativa, ao verificar seu rápido crescimento e maturidade sexual, elevada prolificidade e o pequeno consumo de ração, com um baixo investimento, com conseqüente retorno financeiro.

Depois de se expandir, a coturnicultura mais especializada se fortaleceu, principalmente pela boa aceitação do ovo de codorna no cardápio dos brasileiros. Segundo

dados da APAC (Associação Paulista de Coturnicultura), atualmente a produção chega a 4,8 milhões de ovos por dia, concentrando-se basicamente nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (AVICULTURA INDUSTRIAL, 2003).

### **2.11.3 A codorna como animal de laboratório**

Atualmente, codornas têm se tornado um importante animal experimental, sendo utilizadas extensivamente em pesquisas genéticas, nutricionais, toxicológicas, fisiológicas e patológicas (ICHILCIK; AUSTIN, 1978), sendo mais especificamente utilizadas como modelo para pesquisas aviárias (WILSON et al., 1961). Essa ampla utilização das codornas com finalidades científicas se deve principalmente a sua semelhança fisiológica e anatômica com as galinhas domésticas além de fatores como seu pequeno porte, o que possibilita uma melhor acomodação, pois em um espaço onde se cria apenas uma galinha é possível acomodar até 10 codornas, além de possuírem um ciclo de vida relativamente curto, sendo possível obter até seis gerações de codornas por ano, enquanto que nas galinhas só é possível obter duas. Ainda possuem maior resistência a algumas doenças do que outras espécies de aves e por serem dóceis, respondem de forma favorável à manipulação em laboratório (WILLIAMS, 1976; LUCOTTE, 1980).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Origem dos animais

#### 3.1.1 Codornas

As codornas japonesas (*C. japônica*) originaram-se de uma criação situada na zona rural da localidade de São Miguel, Município de Seropédica no Estado do Rio de Janeiro. As aves após o nascimento foram encaminhadas diretamente ao local do experimento e alojadas em caixas de polietileno, devidamente aquecidas com lâmpadas incandescentes. O fornecimento de ração balanceada para poedeiras e água foi dado *ad libitum*.

Após aproximadamente um mês do nascimento, um total de 30 aves foi dividido de forma aleatória em três grupos de 10 animais, sendo que dois grupos foram utilizados para inóculos de diferentes concentrações e um grupo controle.

#### 3.1.2 Gatos

Duas gatas no terço final da gestação foram trazidas ao infectório do L.C.C. e submetidas a um exame de fezes que constatou a presença de ovos de *Toxocara* sp. em uma das gatas. Sendo assim, ambas foram tratadas com Praziquantel em associação com Pamoato de Piranel (20mg/230mg) na dose de um comprimido para cada 10 kg de peso vivo, por via oral em duas doses com intervalo de 15 dias entre elas. O exame não constatou a presença de coccídios, porém preventivamente durante o período de sua chegada até o parto, foi administrado Sulfadiazina em associação com Trimetoprim (80mg/400mg) na dose de 0,1 mg/kg por via intramuscular, uma vez ao dia durante 15 dias, à semelhança de Loss e Lopes (1997). Por todo o período de permanência das gatas no infectório, antes e após o parto, suas fezes foram coletadas e submetidas a exames diários utilizando-se a técnica de centrifugo-flutuação com solução saturada de açúcar conforme Figueiredo (1984).

Após o parto, os filhotes, que eram sete no total, foram mantidos com as mães durante 45 dias, quando ocorreu o desmame, e os mesmos passaram a se alimentar com ração seca. Em seguida, estes foram alojados em gaiolas individuais, com água e comida *ad libitum*, e para facilitar a higienização das gaiolas e coleta das fezes, bacias contendo areia higiênica para gatos foram colocadas em cada uma das gaiolas. Exames de fezes dos filhotes foram

realizados diariamente desde o desmame até a infecção, para confirmação de que os animais estavam livres de qualquer tipo de infecção por parasitos gastrintestinais.

### **3.2 Localização do trabalho experimental**

Todo o desenvolvimento das atividades desse estudo foram realizadas, no Laboratório de Coccídios e Coccidioses (L.C.C.) localizado no Projeto Sanidade Animal (EMBRAPA/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária desta IFES.

#### **3.2.2 Baias**

Foram separadas duas baias no infectório do L.C.C. para realização do estudo, sendo uma para alojar as codornas e uma segunda para alojar os gatos. Ambas as baias foram previamente higienizadas com água e sabão e deixadas de molho em hipoclorito de sódio a 5% por um período de aproximadamente 24 horas. Em seguida, as gaiolas foram flambadas com o auxílio de uma vassoura de fogo e colocadas no interior das baias de forma que ficassem suspensas, sem contato direto com o chão.

### **3.3 Preparação do inóculo de oocistos de *Cystoisospora felis***

O isolado puro de *Cystoisospora felis* utilizado para inoculação dos animais deste experimento foi o isolado LCC-UFRRJ 2003, obtido a partir da purificação das fezes de gatos recém desmamados naturalmente infectados por *C. felis*, onde essas fezes foram diluídas em água destilada, filtradas em gaze dupla e armazenadas em garrafas de plástico contendo dicromato de potássio 2,5% na proporção de 1:2, e colocadas sob aeração forçada para esporulação. Após isso, esse homogeneizado foi submetido a sucessivas centrifugações de 10 minutos a 500G cada, e posteriormente lavado com água destilada para limpar a solução e para retirar o excesso de dicromato de potássio, sendo armazenando em solução salina de Hank (ANDRADE, 2000), em adição de penicilina G e estreptomicina, na proporção de 100 U/ml e 10 mg/ml, respectivamente e anfotericina B, na proporção de 0,5 mg/ml.

No momento da utilização deste isolado para da inoculação dos animais deste experimento, a solução de armazenamento, rica em antibióticos e antimicóticos foi removida através de centrifugação em tubos cônicos de polietileno com capacidade para 15ml na velocidade de 500g por 10 minutos e o sedimento concentrado em oocistos ressuspensos em solução PBS pH 7,2, tendo sido tal processo executado por duas vezes. Os oocistos de *C. felis*, uma vez livres da solução de preservação, foram ressuspensos em solução PBS pH 7,2 e a proporção do número de oocistos por volume de suspensão ajustada em câmara hemocitométrica de forma que fossem obtidos dois inóculos de concentrações de  $1,0 \times 10^3$  e  $1,0 \times 10^6$  oocistos/ml. As suspensões finais de oocistos esporulados nas duas concentrações diferentes forma os inóculos utilizados para as codornas e gato.

### **3.4 Inoculação das codornas**

Um total de 30 codornas foi separado aleatoriamente em três grupos de 10, sendo o primeiro grupo denominado infectado I, onde cada animal foi infectado com 1 ml de suspensão contendo  $1,0 \times 10^6$  oocistos esporulados *C. felis*. O segundo grupo, denominado infectado II, teve cada animal infectado com 1 ml de suspensão contendo  $1,0 \times 10^3$  oocistos esporulados de *C. felis* e finalmente o grupo denominado grupo controle, onde cada animal recebeu 1 ml de uma solução contendo somente PBS pH 7,2, que era o veículo utilizado para infecção. Em todos os grupos a inoculação foi realizada como auxílio de uma sonda orogástrica.

### **3.5 Eutanásia dos animais**

Depois de decorridos 60 dias da infecção, de forma que a mesma se tornasse crônica, as codornas foram eutanasiadas, conforme resolução nº 714, de 20 de junho de 2002 do CFMV (COBEA, 2007).

Fígado, baço e bursa de todos os animais foram retirados e separados em duas alíquotas cada, respeitando a separação por grupo. A primeira alíquota de cada órgão foi fixada em formol histológico a 10% para preparação dos cortes histológicos. Já a segunda alíquota, foi triturada e utilizada como inóculo para os gatinhos livres de coccídios.

### **3.6 Infecção dos gatos com vísceras de codornas infectadas e com oocistos esporulados de *C. felis***

Cada um dos sete filhotes recebeu uma fonte de infecção distinta, sendo os gatos chamados A, B e C alimentados com fígado, baço e bursa cloacal de codornas do grupo infectado I, respectivamente, e os gatos D, E e F alimentados com fígado, baço e bursa de codornas do grupo infectado II, respectivamente, e por fim o gato chamado de gato G recebeu 1ml de suspensão de  $1,0 \times 10^6$  oocistos esporulados de *C. felis* por via oral.

### **3.7 Determinação dos períodos pré-patente e patente**

Após a infecção, todo o volume de fezes dos animais foi colhido individual e diariamente, desde a infecção até o término da eliminação, para determinação dos períodos pré-patente e patente. Para análise da presença de oocistos nas fezes, foi utilizada a técnica de centrifugo-flutuação conforme Figueiredo (1984).

### **3.8 Contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG)**

Após o início da eliminação, todo o conteúdo de fezes diário dos gatos infectados experimentalmente passou a ser recolhido, pesado e processado, onde 2 gramas do volume fecal total de cada animal foi diluído em 100 ml de água destilada, homogeneizado e coado em tamis com gaze dobrada, separadamente. Em seguida essa suspensão foi novamente homogeneizada e 10 ml foram separados em tubos de plástico de centrifuga de 15 ml, centrifugados por 10 minutos a 500g, e após a centrifugação o sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspendido em 10 ml de solução saturada de açúcar e centrifugado da mesma forma, por 10 minutos a 500g. Em seguida, foi adicionada solução saturada de açúcar até a formação de um menisco convergente na superfície de cada tubo de centrífuga, com conseguinte colocação de uma lamínula sobre este, por um período de 5 minutos. Essa lamínula foi então sobreposta em lâmina e observada em microscópio binocular Carl Zeiss em objetiva de 40X, sendo os oocistos encontrados na lâmina contados e esse número multiplicado por fator 5, conforme Menezes e Lopes (1995), obtendo-se assim o número de oocistos em 1 grama de fezes (OoPG) de cada animal. Esse procedimento foi realizado



diariamente para todos os animais individualmente, desde o primeiro até o último dia de eliminação.

### **3.9 Esporulação e mensuração dos oocistos**

Logo que constatada a eliminação de oocistos nas fezes dos gatos experimentalmente infectados, e após a realização do OoPG, o volume de fezes restante foi diluído em água destilada, coado e tamis com gaze dupla e armazenado em garrafas de plástico com capacidade para 2 litros, contendo dicromato de potássio 2,5% na proporção de 1:4 (v/v) em temperatura ambiente e submetidos a aeração forçada por bomba de aquário.

A taxa de oocistos esporulados foi acompanhada até que esta se mantivesse estável, ou seja, que o número de oocistos esporulados fosse igual ou maior que 70%.

Após a esporulação, uma alíquota de 10 ml de cada amostra foi centrifugada durante 10 minutos a 500g, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspensionado em solução saturada de açúcar e novamente centrifugado por 10 minutos a 500g. Em seguida, completou-se o tubo com solução saturada de açúcar até a formação de menisco convergente, onde foi colocada uma lamínula por um período de 5 minutos, e em seguida essa lamínula foi colocada em uma lâmina e levada ao microscópio ótico, onde os diâmetros, maior (DM) e diâmetro menor (dm) de 50 oocistos e esporocistos de cada gato foi obtido, com o auxílio de uma ocular micrométrica K-15X P20. O índice morfométrico foi obtido pela razão entre DM e o dm, tanto para os oocistos quanto para os esporocistos.

### **3.10 Histologia**

A partir dos fragmentos de fígado baço e bursa previamente fixados em formol histológico a 10%, foram preparados cortes histológicos para visualização de cistos monozóicos, além das possíveis alterações causadas pela infecção por *C. felis*. Os cortes histológicos após serem disparafinados foram corados de acordo com a metodologia utilizada por Behmer et al. (1976), utilizando-se para este fim as colorações por hematoxilina e eosina e PAS.

### **3.11 Avaliações estatísticas**

Os dados de tendência central obtidos e as comparações entre os oocistos esporulados provenientes das diferentes fontes de infecção, assim como os histogramas e as retas de regressão foram analisados de acordo com Sampaio (2002).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 A codorna como um novo hospedeiro intermediário para *Cystoisospora felis*

Após a infecção dos gatos utilizando vísceras de codornas previamente infectadas com oocistos esporulados de *Cystoisospora felis*, estes iniciaram a eliminação de oocistos que após a esporulação, foram confirmados como pertencentes à espécie em questão, através de sua morfometria e morfologia, o que comprova que a codorna neste caso serviu como hospedeiro intermediário para o *C. felis*, o que até então ainda não havia sido descrito por outros autores.

### 4.2 Aspectos Clínicos dos animais

Concordando com o que foi descrito para a maioria dos possíveis hospedeiros intermediários do gênero *Cystoisospora*, as codornas utilizadas neste experimento não tiveram qualquer alteração clínica aparente que pudesse ser relacionada com a infecção. Porém, esta constatação difere dos resultados obtidos por Loss e Lopes (1992c) em camundongos albinos e de Costa e Lopes (1998) em coelhos, que ao infectarem com oocistos esporulados de *C. felis* observaram perda temporária no ganho de peso desses animais, relacionado com a presença de formas teciduais deste parasito e associado a hepato-esplenomegalia. Situação semelhante foi observada por Oliveira et al. (2004) e Reyes et al. (2004) quando utilizaram camundongos e frangos desafiados com oocistos esporulados de *C. ohioensis*.

Já em relação aos gatos utilizados no experimento, os filhotes infectados com fígado e baço de codornas que receberam uma carga de  $10^3$  oocistos viáveis de *C. felis* vieram a óbito respectivamente no 1º e 3º dia após a infecção. Tal fato pode ter ocorrido devido ao estresse da desmama, uma vez que nenhum dos dois animais apresentou sinais aparentes de qualquer outro tipo de problema. Quanto aos filhotes remanescentes, os sinais clínicos observados durante a eliminação dos oocistos de *C. felis* foram: diarreia com presença de muco, pêlos arrepiados e ligeira desidratação, todos condizentes com os achados observados para uma infecção por *C. felis* em gatos infectados experimentalmente (LOSS, 1991).

### 4.3 Morfologia dos oocistos esporulados de *Cystoisospora felis* obtidos dos gatos experimentalmente infectados

Para determinação de uma espécie de coccídio, diversos fatores biológicos e morfológicos devem ser levados em consideração. Dentre as características morfológicas, talvez a mais importante é a mensuração de seus oocistos e esporocistos, que segundo Long e Joyner (1984), podem variar dentro de uma mesma espécie, desde que seu índice morfométrico seja mantido constante, sendo que essa variação pode estar relacionada a diversos fatores externos, como grau de infecção e estatus imunológico do animal.

Para caracterização dos oocistos como pertencente à espécie estudada, fez-se necessária um completo conhecimento dos aspectos taxionômicos que, neste caso, se baseiam nas características fenotípicas, uma delas a morfometria dos oocistos esporulados (TENTER et al., 2002). No presente estudo os oocistos de *C. felis* recuperados de cada gato infectado com os diferentes órgãos de codornas contendo cistos, sendo esses: fígado, baço e bursa de Fabrícus podem ser observados na tabela 1 onde a morfologia dos oocistos esporulados (Figura 1) recuperados de cada fonte de infecção não tiveram diferenças significativas entre as médias das medidas para os diâmetros, maior e menor (Tabela1). O mesmo foi observado entre as médias das medidas de diâmetro maior e menor dos esporocistos provenientes de cada tipo de infecção. Além disso, as medidas dos índices morfométricos foram semelhantes e independentes do tipo de infecção, o que comprova que se trata de oocistos de uma mesma espécie.



**Figura 1.** Oocisto esporulado de *Cystoisospora felis*. Solução saturada de açúcar 1000X

**Tabela 1.** Oocistos esporulados de *Cystoisospora felis* de diferentes fontes de infecção.

Fonte de infecção	Amostras	Oocistos*		
		Diâmetro		Índice morfométrico
		maior	menor	
Fígado	50	44,30±2,30	31,30±1,90	1,40±0,1
Baço	50	46,30±2,20	32,90±1,90	1,40±0,1
Bursa de Fabricius	50	44,80±2,20	31,20±1,60	1,40±0,1
Oocistos esporulados	50	43,60±1,60	30,80±1,60	1,40±0,1

\* Não foram observadas diferenças significativas.

Esses resultados diferem dos resultados observados por Medeiros et al. (2007) e por Carvalho Filho et al. (2004), quando estes observaram oocistos de *C. felis* procedentes de infecção experimental com vísceras de camundongos e gebis, respectivamente. Entretanto, em ambos os casos, o índice morfométrico dos oocistos foi similar ao observado no presente estudo (Tabela 2). Estas variações podem estar relacionadas ao tipo de animal utilizado como hospedeiro intermediário, uma vez que em ambos os trabalhos onde ocorreram as diferenças foram utilizados mamíferos como hospedeiros intermediários.

Além disso, Massad et al. (2009), ao utilizar vísceras de frangos como fonte de infecção experimental de cães para *C. ohioensis* não observaram diferenças significativas entre as médias dos diâmetros maior e menor dos oocistos mensurados.

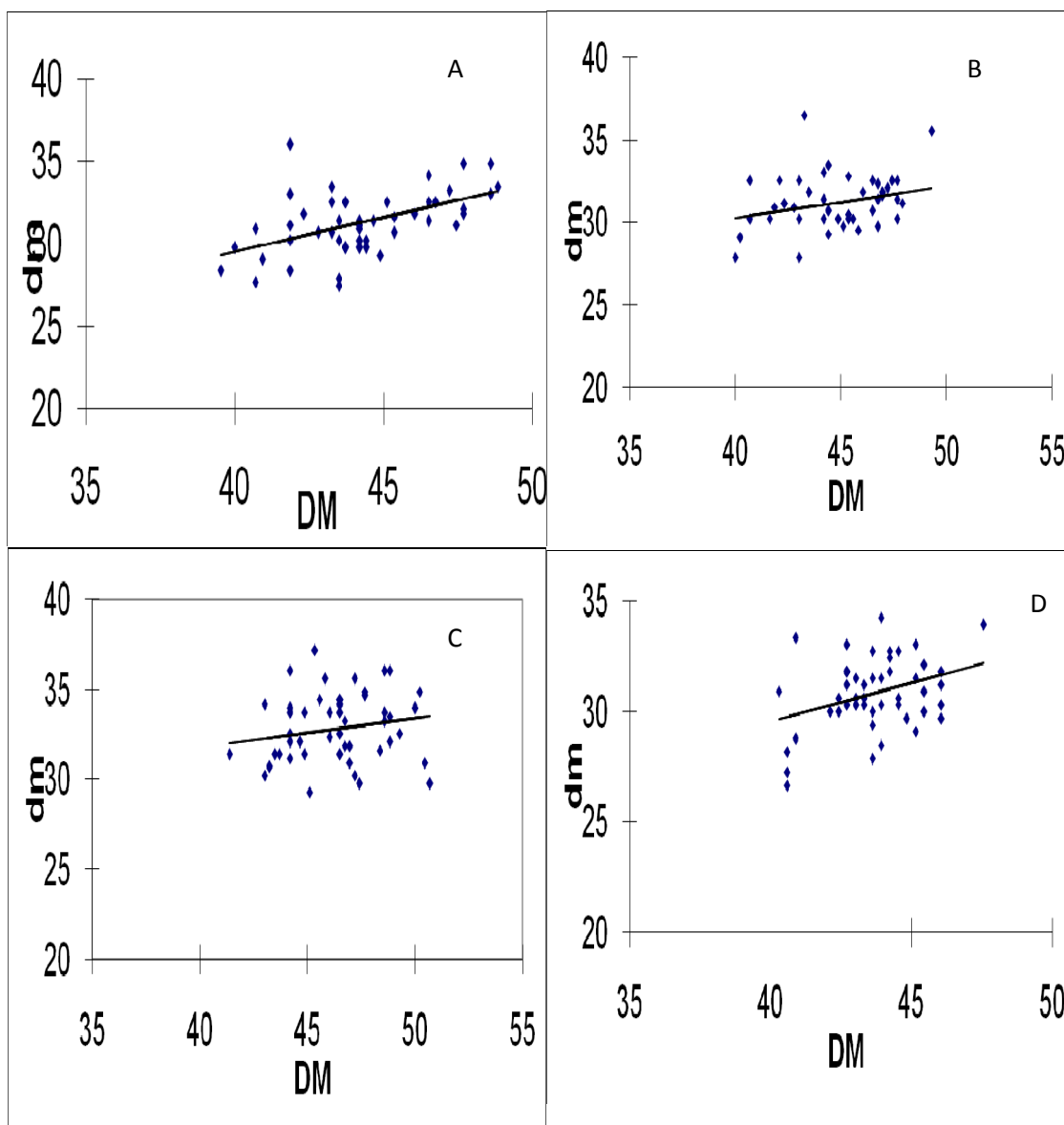
**Tabela 2.** Comparações morfológicas entre oocistos recuperados de diferentes fontes de infecção por diferentes autores.

Autores	Fonte de Infecção	Medidas ( $\mu\text{m}$ )		
		Diâmetro Maior	Diâmetro Menor	Índice Morfométrico
Medeiros et al. (2007)	Vísceras	41,55 $\pm$ 2,19	33,13 $\pm$ 1,75	1,26 $\pm$ 0,08
	Oocistos	40,55 $\pm$ 2,06	32,20 $\pm$ 1,75	1,26 $\pm$ 0,08
Carvalho Filho (2004)	Vísceras*	33,82 $\pm$ 1,55	24,74 $\pm$ 1,30	1,37 $\pm$ 0,07
	Oocistos	NA	NA	NA
Presente Trabalho	Vísceras*	45,13 $\pm$ 2,16	31,80 $\pm$ 1,80	1,40 $\pm$ 0,1
	Oocistos	43,60 $\pm$ 1,60	30,80 $\pm$ 1,60	1,40 $\pm$ 0,1

\* Médias dos valores obtidos das diferentes vísceras utilizadas

NA – Não Analisado

Ainda para confirmação de que os oocistos esporulados recuperados de cada um dos animais alimentados com vísceras procedentes de diferentes fontes de infecção pertenciam a uma mesma espécie, foram traçadas retas de regressão para cada um dos tipos de infecção (Figuras 2a, b, c, d). Os valores de R foram de 0,26 para fígado, 0,29 para baço, e 0,07 e 0,12 para bursa de Fabrícus e para infecção com oocistos esporulados por via oral, respectivamente. Os valores de R menores que 0,1 podem ser explicado, devido à forma dos oocistos recuperados das diversas fontes de infecção, que por serem piriformes podem apresentar acentuado polimorfismo.



**Figura 2.** Retas de Regressão das medidas dos oocistos esporulados recuperados de cada fonte de infecção: fígado (a), baço (b), bursa de Fabricius (c) de codornas japonesas infectadas experimentalmente por via oral com  $10^6$  oocistos esporulados e (d) oocistos obtidos a partir de infecção oral em gatos com  $10^6$  oocistos esporulados.

#### 4.4 Curvas de eliminação dos oocistos de acordo com a fonte de infecção

Após a inoculação ficou confirmado que as vísceras das codornas continham hipnozoítos viáveis de *C.felis*, uma vez que os gatos infectados experimentalmente passaram a eliminar oocistos nas fezes após um período de 5 dias, condizente com o período pré-patente para *C. felis* e, estes oocistos assim que esporulados tiveram somente dois esporocistos

contendo em cada um quatro esporozoítos cada, específico para o gênero *Cystoisospora* de acordo com Dubey e Melhorn (1978), Dubey (1992), Lindsay e Blagburn (1994). Já os animais infectados com oocistos por via oral iniciaram a eliminação de oocistos após 7 dias da infecção, sendo este seu período pré-patente. Resultados similares foram observados por Dubey e Streitl (1976) e Carvalho Filho et al. (2004). Lindsay e Blagburn (1994) assinalaram um período patente de 10-11 dias para *C. felis*, quando gatos livres de coccídios foram infectados por via oral com  $10^4$  oocistos esporulados. Esta disparidade de valores de períodos patente e pré-patentes pode ser explicada por diversos fatores, como o uso de diferentes cepas do parasito, dose infectante ou fatores intrínsecos do hospedeiro utilizado (FAYER, 1980).

As médias do OoPG de cada gato infectado experimentalmente podem ser observados na tabela 3. Apesar de se usar oocistos esporulados de *C. ohioensis* como fonte de infecção experimental para frangos por Massad et al. (2009) os dados verificados não foram semelhantes aos encontrados por este estudo, indicando que a infecção por espécies diferentes do gênero *Cystoisospora* em diferentes hospedeiros intermediários, mesmo sendo aves, não apresentam resultados semelhantes.

As curvas de eliminação preparadas a partir do OoPG de oocistos eliminados diariamente, resultado da infecção por cada órgão estudado, tiveram papel fundamental ao possibilitar a comparação entre as quatro origens de infecção utilizadas (Figura 3a, b, c, d).

Ao fim do período patente, obteve-se um número expressivo de oocistos nos valores totais por cada fonte de infecção (Tabela 3). Ao se comparar os resultados obtidos no presente estudo com os observados por Carvalho Filho et al. (2003), quando este utilizou fígado, baço e linfonodos mesentéricos de suínos e oocistos por via oral como fonte de infecção para gatos, pode-se constatar que apesar de, no presente estudo o órgão que teve o uma melhor resposta quanto ao número de oocistos eliminados pelo gato ter sido o fígado, enquanto que dentre os órgãos utilizados por Carvalho Filho et al. (2003) os linfonodos mesentéricos obtiveram melhores resultados, em ambas as experimentações, a infecção dos gatos com oocistos esporulados de *C. felis* por via oral obtiveram uma maior eliminação de oocistos nas fezes. Quanto aos picos de eliminação, os obtidos por Carvalho Filho et al. (2003) foram mais tardios que os observados no presente estudo. Estas variações podem estar relacionadas a uma série de fatores, entre eles, a diferença quanto ao tipo de animal utilizado como hospedeiro intermediário, uma vez que no presente estudo foi utilizado codornas japonesas e Carvalho Filho et al. (2003) utilizaram mamíferos, neste caso, suínos. Entretanto, ao se comparar o total de oocistos eliminados pelos gatos do estudo em questão com os obtidos por Massad et al.



(2009), quando este utilizou vísceras de frangos contendo hipnozoítos e oocistos viáveis de *C. ohioensis* como fonte de infecção para cães, observou-se que os animais que receberam os órgãos tiveram uma maior eliminação de oocistos que os animais que receberam oocistos esporulados por via oral, o que difere dos resultados obtidos no presente estudo.

Essa maior eliminação dos animais infectados com oocistos por via oral pode ser explicada pelo fato de que os oocistos possuem cada um oito esporozoítos, enquanto que nos cistos só existe um esporozoíto, o que acaba por levar a uma conseqüente maior eliminação.

**Tabela 3.** Eliminação de oocistos de *Cystoisospora felis* por gatos infectados com diferentes fontes de infecção.

Origem do material infectante	Fonte de infecção	Período		Número de oocistos	
		Prepatente	Patente	OoPG <sup>c</sup>	Total
Codorna japonesa <sup>a</sup>	Baço	5	12	3.450	57.740
	Fígado	5	12	4.880	216.522
	Bursa de Fabricius	5	12	445	19.924
Oocistos esporulados <sup>b</sup>	Fezes	7	14	31.274	1.565.948

<sup>a</sup> Animais infectados previamente com 10<sup>6</sup> oocistos esporulados

<sup>b</sup> Gatinhos infectados por via oral com 10<sup>6</sup> oocistos esporulados

<sup>c</sup> Oocistos por grama de fezes.

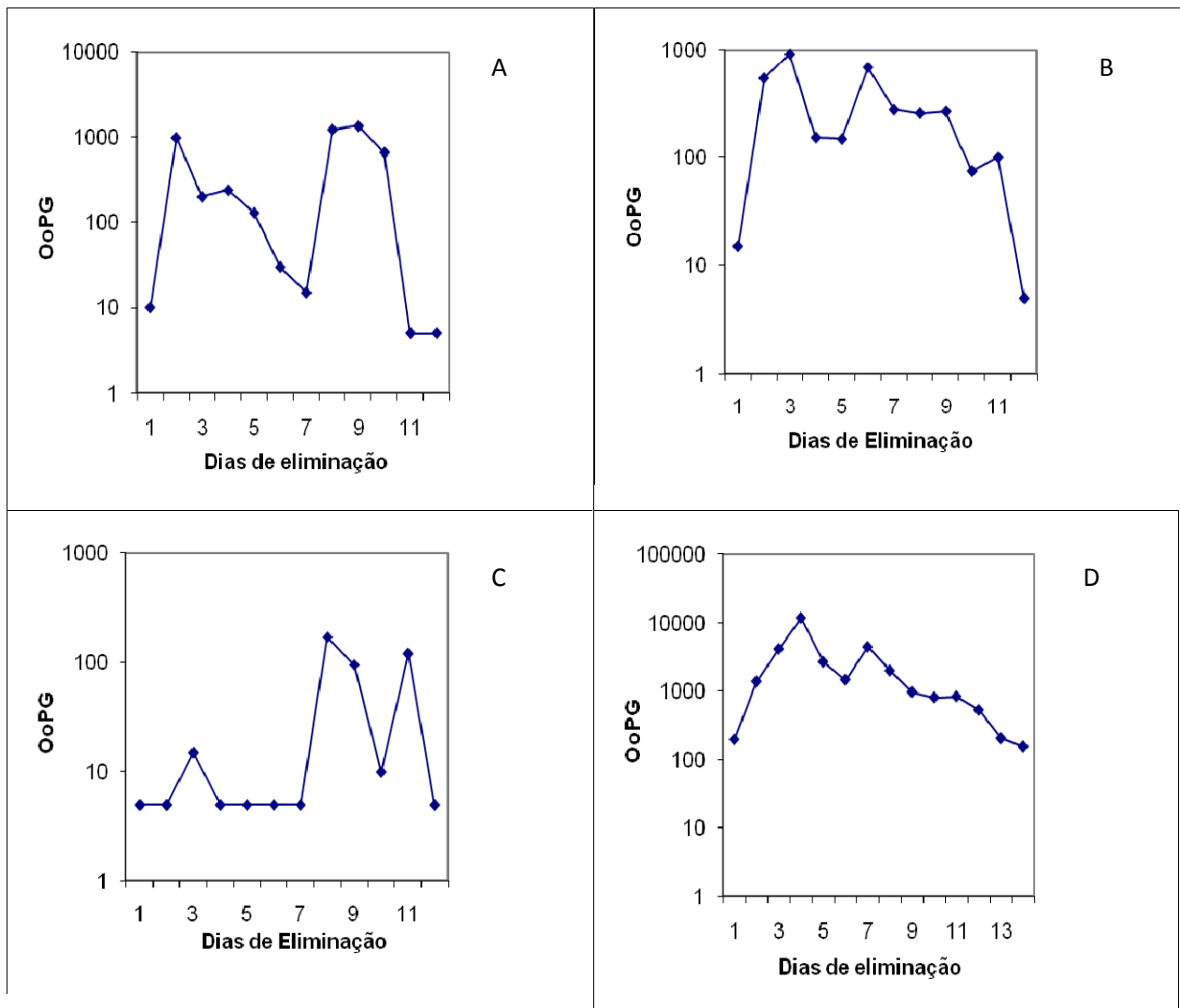


Figura 3. Eliminação de oocistos de *Cystoisospora felis* por gatos alimentados com fígado (a), baço (b), bursa de Fabricius (c) de codornas japonesas e gato infectado experimentalmente por via oral com  $10^6$  oocistos esporulados (d)

#### 4.5 Análise dos Histogramas

Na análise dos histogramas, observou-se uma variação na distribuição das medidas dos oocistos, de acordo com as formas de infecção. Os oocistos provenientes do animal infectado com bursa (Figura 4) apresentaram uma distribuição pouco uniforme, onde a maior parte dos oocistos media entre 46,65 e 47,98  $\mu\text{m}$  de diâmetro maior e entre 29,14 e 31,6  $\mu\text{m}$  para diâmetro menor, assim como os oocistos Já os oocistos oriundos da infecção direta por oocistos (Figura 5), mediam em sua maioria entre 42,38 e 43,42  $\mu\text{m}$  de diâmetro maior e entre 29,9 e 30,98  $\mu\text{m}$  de diâmetro menor, e os obtidos a partir dos animais alimentados com fígado (Figura 6) e baço (Figura 7), onde a maioria dos oocistos tinha valores de diâmetro maior entre 43,52 e 44,85  $\mu\text{m}$  e entre 31,13 e 32,36  $\mu\text{m}$  de diâmetro menor para fígado e entre 44,06 e 45,39  $\mu\text{m}$  de diâmetro maior e 31,5 e 32,7  $\mu\text{m}$  de diâmetro menor para baço, tiveram uma distribuição mais homogênea, concentrando a maior parte dos oocistos dentre os valores medianos, o seja, dentro da curva de distribuição normal.

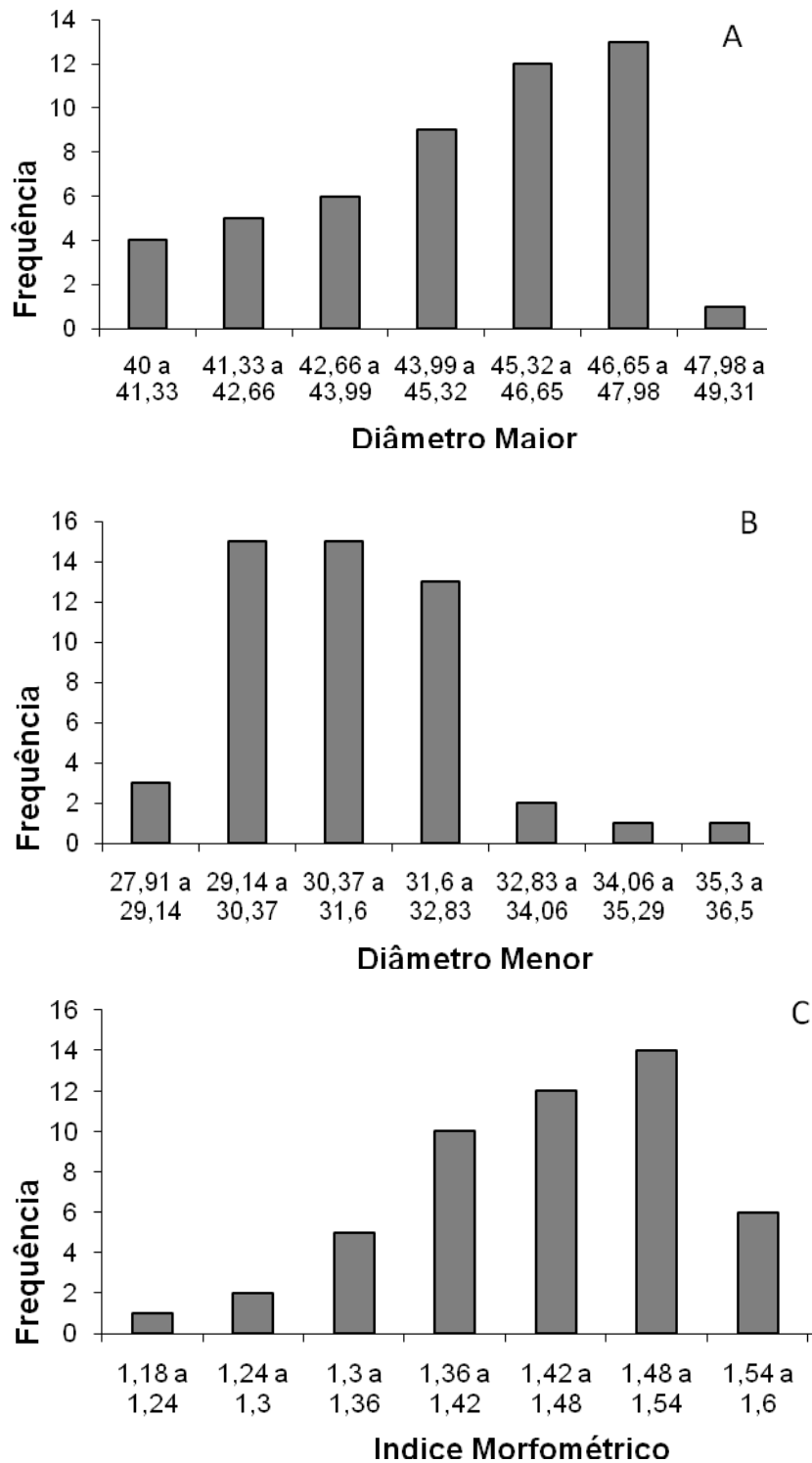


Figura 4. Histogramas dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com bursa de Fabrícious de Codornas contendo cistos de *Cystoisospora felis*.

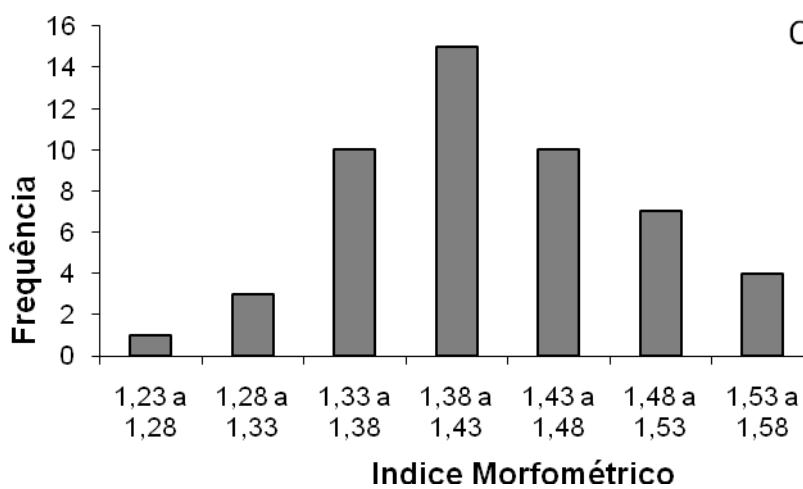
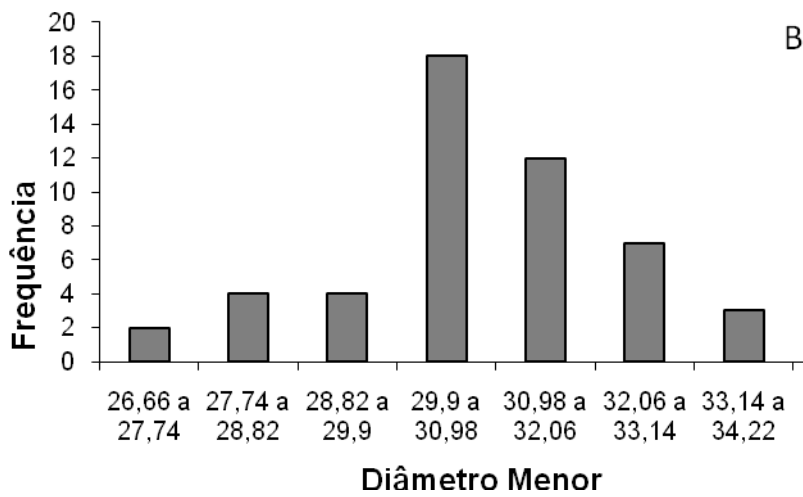
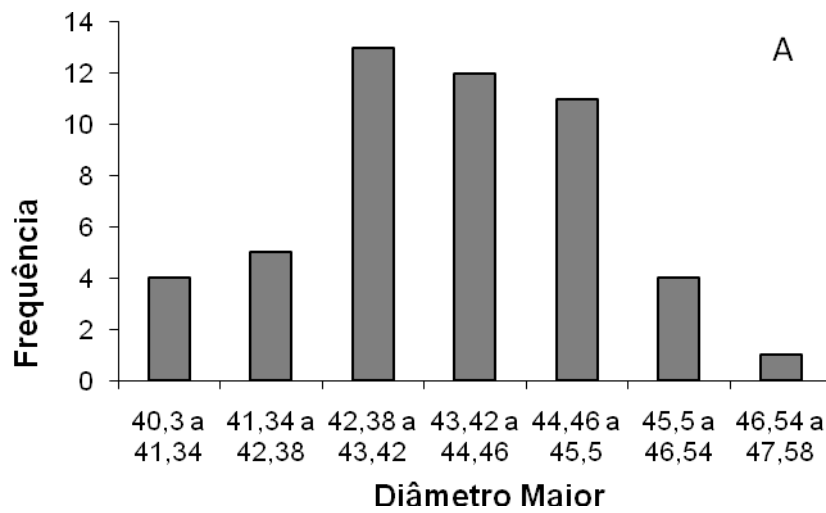


Figura 5. Histogramas dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com  $10^6$  Oocistos de *Cystoisospora felis*.

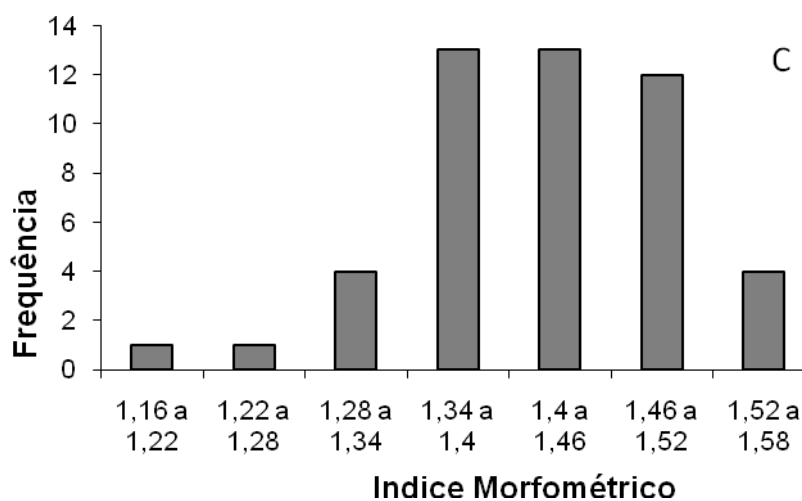
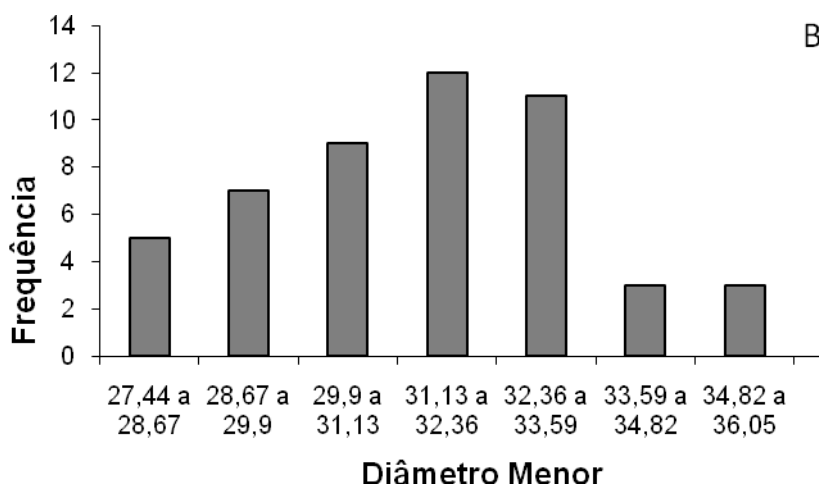
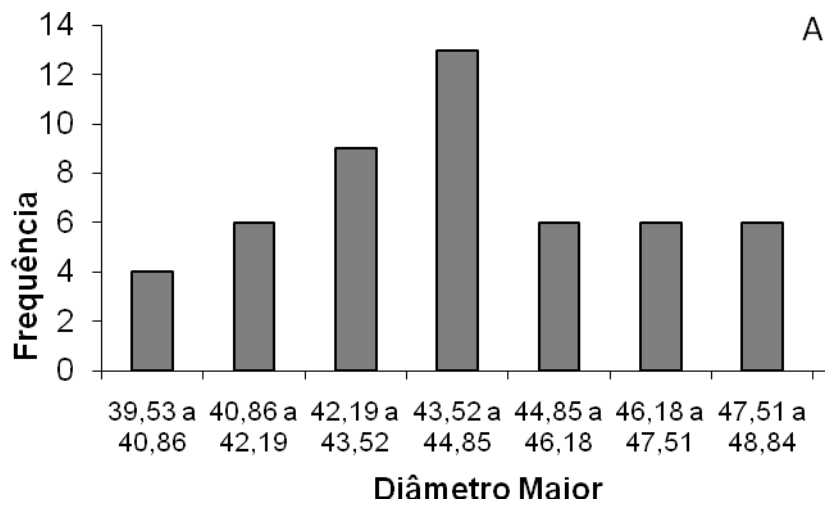


Figura 6. Histogramas dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com Fígado de Codornas contendo cistos de *Cystoisospora felis*.

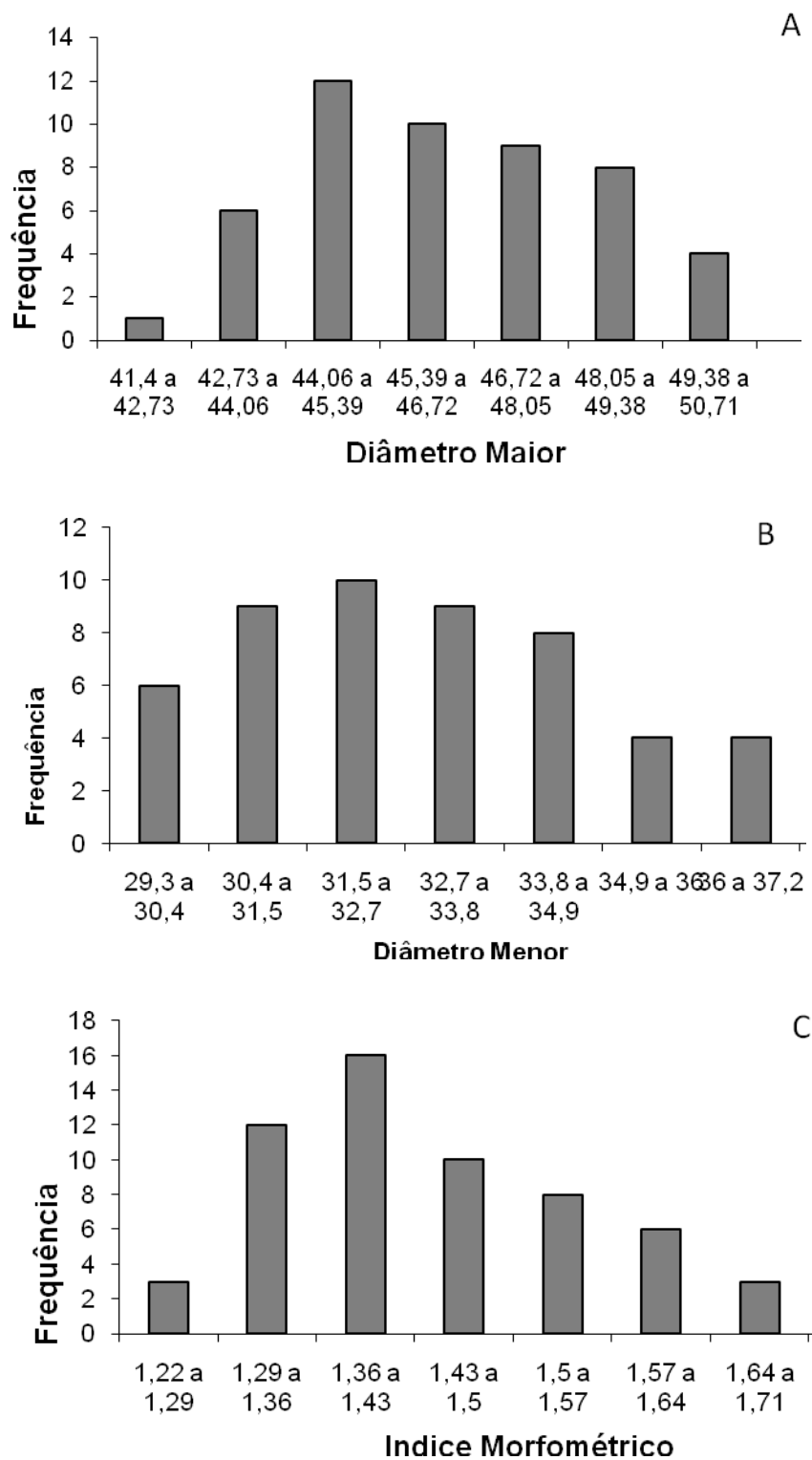


Figura 7. Histogramas dos diâmetros maior (A), menor (B) e Índice Morfométrico (C) dos oocistos eliminados pelo gato infectado com Baço de Codornas contendo cistos de *Cystoisospora felis*.

#### **4.6 Análise Histológica**

Ao serem observadas em microscópio ótico, não foi possível observar a presença de cistos monozóicos nas vísceras das codornas infectadas experimentalmente, corroborando assim com as afirmações de Dubey e Frenkel (1972). Este fato pode ser explicado pelo reduzido número de cistos na musculatura, o que dificulta sua visualização em cortes histológicos. Também não foram encontradas alterações patológicas dignas de nota nos órgãos observados que pudessem ser compatíveis com lesões causadas pelo parasito.



## 5 CONCLUSÕES

1. A codorna japonesa é considerada um hospedeiro intermediário para *C. felis*, pois gatos infectados com vísceras destes animais contendo cistos monozóicos foram capazes de eliminar oocistos nas fezes.
2. A infecção de gatos com oocistos esporulados de *C. felis* produz uma eliminação maior de oocistos do que a infecção via hospedeiro intermediário, quando a codorna foi utilizada como hospedeiro intermediário, e entre os órgãos utilizados neste estudo o fígado mostrou-se capaz de promover uma maior eliminação de oocistos.
3. Os oocistos de *C. felis* não apresentam significativo polimorfismo quando oriundos de diferentes fontes de infecção de codornas japonesas infectadas experimentalmente.

## 6 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.

ANDRADE, C.M. *Meios e Soluções comumente empregados em Laboratórios*. 1ª ed. Seropédica: EDUR, 2000. 353p.

AVICULTURA INDUSTRIAL. Artigos: Produtos-codornas. Mercado movimentado R\$ 1 milhão por mês, 2001. On line. Disponível em: <[http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=428&tipo\\_tabela=produtos&categoria=codorna](http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=428&tipo_tabela=produtos&categoria=codorna)>. Capturado em: julho de 2003.

BARBER, J.S.; TRESS, A.J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *International Journal for Parasitology*, v. 28, n. 1, p. 57-64, 1998.

BARRETO, 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, n.2, p. 357-360, 1937.

BARTA J.R.; SCHRENZEL M.D.; CARRENO R.; RIDEOUT B.A. The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isoospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isoospora* species infecting mammals. *Journal of Parasitology*, v. 91, n. 3, p. 726-727, 2005.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; NETO, A.G.F. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART. 1976. p. 84-85.

BOX, E.D.; MARCHIONDO, A.A.; DUSZYNSKI, D.W.; DAVIS, C.P. Ultrastructure of *Sarcocystis* sporocysts from passerine birds and opossums: comments on classification of the genus *Isoospora*. *Journal of Parasitology*, v. 66, n. 1, p. 68-74. 1980.

BRÖSIGKE, S.; HEINE, J.; BOCH, J. Der nachwels extraintestinalen Entwicklungstadien (Dormoziten) in experimentall mit *Cystoisospora rivolta* oozysten infierten Mause. *Klentier Praxis*, v. 27, n.1, p. 25-34, 1982.

CARRENO, R.A.; SCHNITZLER, B.E.; JEFFRIES, A.C.; TENTER, A.M.; JOHNSON, A.M.; BARTA, J.R. Phylogenetic analysis of coccidian based on 18S rDNA sequence comparison indicates that *Isospora* is most closely related to *Toxoplasma* and *Neospora*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 85, n.1, p. 77-83, 1998.

CARVALHO FILHO, P.R. de; MASSAD, F.V.; BEZERRA, M.M.; OLIVEIRA, F.C.R. de; LOPES, C.W.G. *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.

CARVALHO FILHO, P.R. de; 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.

COBEA, Legislação & ética. Disponível em: < <http://www.cobea.org.br/ética.htm>>. Acesso em: 14 mar., 2007.

CORLISS, J.O. An interim utilitarian (“User-friendly”) hierarchical classification and characterization of the protists. *Acta Protozoologica*, v.33, n. 1, p. 1-51, 1994.

CORRADELO, E. de F.A. *Codorna Máquina Produtora de Carnes e Ovos*. São Paulo. Ed Ícone. 1990. 87p.

COSTA, P.S. DA; LOPES, C.W.G. Avaliação do parasitismo de hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em coelhos tipo carne. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 7, n.1, p. 15-19, 1998.

COSTA, P.S.; LOPES, C.W.G. Hipinozoítas de *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 1, n.1, p. 35-36, 1997.

DUBEY, J.P. Attempted transmission of feline coccidia from cronically infected queens to their kittens. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 170, n.5, p. 541-543, 1977.

DUBEY, J.P. Intestinal protozoa infections. *The Veterinary Clinic of North America. Small Animal Praticce*, v. 23, n. 1, p. 37-55, 1993.

DUBEY, J.P. Life cycle of *Isospora rivolta* (Grassi: 1879) in cats and mice. *Journal of Protozoology*, v. 26, n. 3, p. 433-443, 1979.

DUBEY, J.P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Veterinary Parasitology*, v. 74, n. 1, p. 75-77, 1998.

DUBEY, J.P. *Toxoplasma, Neospora, Besnoitia, Sarcocystis* and other tissue cystis-forming coccidia of man and animals. In: Kreier J.P (ed) *Parasitic Protozoa*. New York: Academic Press, p. 120-128, 1992.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Extra-intestinalstages of *Isospora felis* and *I. rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. *Journal of Protozoology*, v.19, n.1, p.89-92, 1972.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis of rats: a review with considerations of their values as an animal model and their possible role in epidemiology. *Veterinary Parasitology*, v. 77, n.1, p. 1-32, 1998.

DUBEY, J.P.; MEHLHORN, H. Extraintestinal stages of *Isospora ohioensis* from dogs in mice. *Journal of Parasitology*, v. 64, n. 4, p. 689-685, 1978.

DUBEY, J.P.; MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *Journal of Experimental Medicine*, v. 132, n. 4, p. 636-662, 1970.

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.

DUSZYNSKI, D.W.; COUCH, L.; UPTON, S.J. *Coccidia (Eimeridae) of Canidae and Felidae*, 2000. Disponível em: <<http://biology.unm.edu/biology/coccidia/carniv1.html>> Acesso em: 05 de junho de 2007.

FAH, S.K. The nutrition and management of Japanese (*Coturnix*) quail in the tropics. Disponível em: <<http://www.thatquailplace.com/quail/coturn1.html>>. Capturado em junho de 2003.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidian. *Veterinary Parasitology*, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.

FAYER, R.; FRENKEL, J.K. Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidian: *Besnoitia*, *Hammondia*, *Cystoisospora*, *Sarcocystis* and *Toxoplasma*. *Journal of Parasitology*, v.65, n.5, p. 756-762, 1979.

FAYER, R.; JOHNSON, A.J. Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with sporocysts from dogs. *Journal of Parasitology*, v. 59, n. 6, p. 135-137, 1973.

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.

FRANZEN, C.; MULLER, A.; BIALEK, R.; DIEHL, V.; SALZBERGER, B.; FATKENHEUER, G. Taxonomic position of the human intestinal protozoan parasite *Isospora belli* as based on ribosomal RNA sequences. *Parasitology Research*, v. 86, n.8, p. 669-676, 2000.

FREIRE, R.B.; LOPES, C.W.G. Distribuição de hipinozoítas 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.

FREIRE, R.B.; LOPES, C.W.G. Infecção experimental em camundongos neonatos com esporozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocistidae). *Revista Brasileira Ciência Veterinária*, v. 2, n. 1, p. 33-34, 1995.

FRENKEL, J.K. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: With a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidian. *Journal of Parasitology*, v. 63, n.4, p.611-628, 1977.

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.

FRENKEL, J.K.; SILVA, M.B.O.; SALDANHA, J.; SILVA, M.L.; FILHO, V.D.C.; BARATA, C.H.; SILVA, E.L.; RAMIREZ, L.E.; PRATA, A. Presença extra-intestinal de cistos unizóicos de *Isospora belli* em paciente com SIDA. Relato de Caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n.3, p. 409-412, 2003.

FRENKEL, J.K.; SMITH, D.D. Determination of the genera of cyst-forming coccidia. *Parasitology Research*, v. 91, n. 5, p. 384-389, 2003.

GENNARI, S.M.; KASAI, N.; PENA, H.F. de J.; CORTEZ, A. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 36, n. 2, p. 87-91, 1999.

HEINE, J. Die tryptische Organverdauung als Methode zum nachweis extraintestinaler Stadien bei *Cystoisospora* spp. – Infektionen. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, v. 94, n.6, p.103-104, 1981.

HERZOG, J.D.; FLAUSINO, W.; FREIRE, R.B. Hipinozoítas de *Cystoisospora felis* em cobaios. In: *SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA*, 7. Londrina, 1993. *Anais ... Londrina: CBPV*, 1993. p. 09.

HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1669-1676, 1999.

HITCHCOCK, D. J. The life cycle of *Isoospora felis* in the kitten. *Journal of Parasitology*, v. 41, n.4, p. 383-393, 1955.

HOWES, J.R. Japanese quail as found in Japan. *Quail Japanese Journal of Veterinary Science, Quarterly*, v. 1, n.1, p. 19-30, 1964.

ICHILCIK, R.; AUSTIN, J.C. The japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as a laboratory animal. *Journal of South African Veterinary Association*, v. 49, n.3, p. 203-207, 1978.

LEVINE, N.D. *The protozoan phylum Apicomplexa*. CRC press, Boca Raton, Florida, Vols I and II. p. 357, 1988.

LEVINE, N.D. *Veterinary Protozoology*. 1<sup>a</sup> ed. Ames: Iowa State Univ. Press, 1985. 414 p.

LIN D.S.; LAI, S.S.; BOWMAN, D.D.; JACOBSON, R.H.; BARR, M.C.; GIOVENGO, S.L. Feline immunodeficiency virus, feline leukaemia virus, *Toxoplasma gondii* and intestinal parasitic infections in Taiwanese cats. *British Veterinary Journal*, v. 146, n. 5, p. 468-475, 1990.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. Biology of mammalian *Isoospora*. *Parasitology Today*, v.10, n. 6, p. 214-220, 1994.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BLAGBURN, B.L. Biology of *Isoospora* spp from humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clinical Microbiology Review*, v.10, n.1, p. 19-34, 1997.

LONG, P.L.; JOYNER, L.P. Problems in the identification of species of *Eimeria*. *Journal of Protozoology*, v. 31, n. 4, p. 535-541, 1984.

LOSS, Z. G.; LOPES, C. W. G. Efeito da infecção experimental por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1926) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) no ganho de peso de camundongos. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 15, n. 01, p. 109-111, 1992a.

LOSS, Z.G.; LOPES, C. W. G. Alguns aspectos clínicos na infecção experimental por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1926) Frenkel, 1977. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 15, n. 01, p. 79-84, 1992b.

LOSS, Z. G.; LOPES, C. W. G. Aspectos patológicos da infecção experimental por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1926) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em gatos. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 15, n. 02, p. 113-119, 1992c.

LOSS, Z.G. *Cystoisosporose felina*. 1991. 104 f. Tese (Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1991.

LOSS, Z.G.; LOPES, C.W.G. Tratamento durante a gestação e no período pós-parto com sulfadiazina associada à pirimetropina 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.

LUCOTTE, G. *La codornix cria y explotacion*. 2ª ed. Editora Mundi-Prensa, Madrid. 1980. 99p.

MAROTEL, G. Sur une nouvelle Coccidie du chat. *Bull. Soc. Sci. Véter. Lyon*, p. 86, 1921. *apud* WENYON, C.M. Coccidiosis of cats and dogs and the status of the *Isoospora* of mam. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v.17, n. 1, p. 231-288, 1923.

MASSAD, F.V. *Importância do Carnivorismo na Disseminação de Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em cães, utilizando o frnago



como modelo experimental. 2004. Dissertação (Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

MASSAD, F.V.; OLIVEIRA, F.C.R. DE; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G. Hipinozoítas de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em frangos. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 10, n.1, p. 57-58, 2002.

MASSAD, F.V.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; OLIVEIRA, F.C.R.; LOPES, C.W.G. O carnivorismo como fonte de infecção de *Cystoisospora ohioensis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) para cães. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 31, n. 2, p.75-79, 2009.

MEDEIROS, S.M. DE; LOSS, Z.G.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Pleomorfismo de oocistos de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) induzido por diferentes fontes de infecção. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 14, n.3, p. 163-166, 2007.

MEHLHORN, H.; MARKUS, M.B. Electron microscopy of stages of *Isoospora felis* of the cat in the mesenteric lymph node of the mouse. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 51, n. 1, p. 15-24, 1976.

MENEZES, R. de C.A.A. de ; LOPES, C. W. G. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na microrregião Serrana Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Universidade Rural: Ciências da Vida*, v. 17, n. 02, p. 5-12, 1995.

MUGRIDGE, N.B.; MORRISON, D.A.; JÄKEL, T.; HECKEROTH, A.R.; TENTER, A.M.; JOHNSON, A.M. Effects of sequence alignment and structural domains of ribosomal DNA on phylogeny reconstruction for the protozoan family sarcocystidae. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 12, p.1842-1853, 2000.

MUNDHENKE, H.; DAUGSCHIES, A. Untersuchungen zum Vorkommen von Endoparasiten bei der Katze in Hannover und seinem Umland. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, v. 86, n. 2, p. 43-48, 1999.

NEMESÈRI, L. Beitrage zur atologie der coccidiose der Hunde. I. *Isospora canis* sp. n. *Acta Veterinaria*, v. 10, n. 1, p. 95-99, 1960.

NICHOL, S.; BALL, S.J.; SNOW, K.R. Prevalence of intestinal parasites in feral cats in some urban areas of England. *Veterinary Parasitology*, v. 9, n. 2, p. 107-110, 1981.

ODENING, K. The present state of espécies-systematics in *Sarcocystis* Lankaster, 1882 (Protista, Sporozoa, Coccidia). *Systematic Parasitology*, v. 4, n.3, p. 209-233, 1998.

OLIVEIRA, F.C.R. de; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G.; MASSAD, F.V.; MUNHOZ, A.D. Hipinozoítas de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) recuperados de órgãos de camundongos através da digestão péptica. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.10, n. 1, p.29-35, 2001.

OLIVEIRA, F.C.R. DE; LOPES, C.W.G.; FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; MASSAD, F.V. Rendimento de carcaça em camundongos infectados experimentalmente com *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Universidade Rural: Ciências da Vida*, v. 24, Supl. 1, p. 251-252, 2004.

OLIVEIRA-SILVA, M.B.; LAGES-SILVA, E.; RESENDE, D.V.; PRATA, A.; RAMIREZ, L.E; FRENKEL, J.K. *Cystoisospora belli*: In vitro multiplication in mammalian cells. *Experimental Parasitology*, v.114, n.3, p.189-192, 2006.

PATTON, S.; RABINOWITZ, A. R. Parasites of wild felidae in Thailand: a coprological survey. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 30, n. 3, p. 472-475, 1994.

PEIXOTO, C. M. S.; LOPES, C. W. G. Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em galinhas naturalmente infectadas. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 13, n. 02, p. 105-111, 1991.

RASCHKA, C.; HAUPT, W.; RIBBECK, R. Untersuchungen zum Endoparasitenbefall bei streuenden Katzen. *Monatshefte Veterinarmedizin*, v. 49, n.7, p.307-315, 1994.

REESE, N.C.; CURRENT, W.L.; ERNST, J.V.; BAILEY, W.S. Cryptosporidiosis of MAM and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. *American Journal of Tropical Medicine*, v. 31, n. 2, p. 226-229, 1982.

REYES, S.; LOPES, C.W.G.; OLIVEIRA, F.C.R. de; MASSAD, F.V. Observações macroscópicas da infecção por *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em frangos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 26, n. 1, p. 31-35, 2004.

RUFF, M.D. Important parasites in poultry production systems. *Veterinary Parasitology*, v. 84, n. 3-4, p. 337-347, 1999.

SAMARASINGHE, B.; JOHNSON, J.; RYAN, U. Phylogenetic analysis of *Cystoisospora* species at the rRNA ITS1 locus and development of a PCR-RFLP assay. *Experimental Parasitology*, v.118, n. 4, p.592-595, 2008.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª Ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002. 265 p.

SANTOS, J.A.; STABENOW, C.S.; OLIVEIRA, F.C.R. de; LOPES, C.W.G. Cistisporose em gatos de rua do município de Campos dos Goytacazes, RJ. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12 supl. 1, p. 231-232, 2002.

SHAH, H. L. The life cycle of *Isospora felis*, Wenyon, 1923, a coccidium of the cat. *Journal of Protozoology*, v. 18, n. 1, p. 3-17, 1971.

SMITH, D.D. The Sarcocistidae: *Sarcocystis*, *Frenkelia*, *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Hammondia* and *Cystoisospora*. *Journal of Protozoology*, v.28, n.2, p.262-266, 1981.

SMITHSONIAN. Bird net. Obtido em: <[www.si.edu](http://www.si.edu)> Capturado em: outubro, 2009. (completar)

TENTER, A.M.; BARTA, J.R.; BEVERIDGE, I.; DUSZYNSKI, D.W.; MEHLHORN, H.; MORRISON, D.A.; THOMPSON, A.R.C.; CONRAD, P.A. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. *International Journal for Parasitology*, v. 32, n.5, p. 595- 616, 2002.

TOMIMURA, T. Experimental studies on coccidiosis in dog and cats sporogony of *Isospora felis* and artificial infection in cats. *Japanese Journal of Parasitology*, v. 6, n.1, p.12-24, 1957.

VANPARIJS, O.; HERMANS, L.; van der FLAES, L. Helminths and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium. *Veterinary Parasitology*, v. 38, n. 1, p. 67-73, 1991.

WENYON, C.M. Coccidiosis of cats and dogs and the status of the *Isospora* of mam. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v.17, n. 1, p. 231-288, 1923.

WENYON, C.M. *Protozoology*. William, Wood and Company, NewYork. Vol. 2, 1926, 1396p.

WILLIAMS, C.S.F. Quail. In: *Practical guide laboratory animals*. 1<sup>a</sup> ed. Editora Mosby. 1976. 207p.

WILSON, W.O.; ABBOTT, U.K.; ABPLANALP. Evaluation of *Coturnix* (Japanese quail) as pilot animal for poultry. *Poultry Science*, v. 40, p. 651-657, 1961.

## **7 ANEXOS**

## ***Sarcocystis cruzi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) no cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*)<sup>1</sup>**

Janaina S. Rodrigues<sup>2</sup>, Gisele S. Meireles<sup>3</sup>, Paulo R. Carvalho Filho<sup>3</sup>, Carlos T. Ribeiro<sup>3</sup>, Walter Flausino<sup>4</sup> e Carlos Wilson G. Lopes<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.**- Rodrigues J., Meireles G.S., Carvalho Filho P.R., Ribeiro C.T., Flausino W. & Lopes C.W.G. 2008. [*Sarcocystis cruzi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*).] *Sarcocystis cruzi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) no cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(11):561-564. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: [lopescwg@ufrj.br](mailto:lopescwg@ufrj.br)

Sporocysts of *Sarcocystis* were identified in feces samples of a crab-eating fox, and were orally given to a suckling calf; after 3 months of infection, sarcocysts morphologically similar to *Sarcocystis cruzi* were observed in cardiac and skeletal striated muscles. The cardiac muscles of this calf were orally given to a puppy free of coccidia, that shed sporocysts in its feces with a prepatent and patent period of 11 and 12 days after infection, respectively. To compare the morphology of the sporocysts and cysts, a second puppy was fed on bovine cardiac muscles infected naturally, and sporocysts identical to those shed by the first dog were recovered from its feces. In spite of the significant difference between sporocysts found in the mucosa of the crab-eating fox and those shed by the first and second puppies, the species observed in this study was considered to be *Sarcocystis cruzi*, based on size of the sporocysts, morphology of the cyst wall, and the prey-predator cycle.

**INDEX TERMS:** *Sarcocystis cruzi*, sporocysts, cysts, crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, dogs, cattle.

**RESUMO.**- Esporocistos de *Sarcocystis* foram identificados nas amostras fecais de um cachorro-do-mato. Eles foram dados por via oral para um bezerro em aleitamento, sendo observados cistos com morfologia compatível com os de *Sarcocystis cruzi* na musculatura cardíaca e esquelética, três meses após a infecção. Musculatura cardíaca deste bezerro foi dada para um segundo cão doméstico livre de coccídios, que eliminou esporocistos compatíveis com os de *Sarcocystis* em suas fezes, tendo com períodos pré-patente e patente 11 e 12 dias após a

infecção respectivamente. Para comparar a morfologia dos esporocistos e cistos, um segundo cão, também livre de coccídios, foi alimentado com musculatura cardíaca de um bovino infectando naturalmente e positivo para cistos de *S. cruzi*. Esporocistos compatíveis com os eliminados pelo primeiro cão foram encontrados nas fezes. Apesar dos esporocistos eliminados pelo cachorro-do-mato serem significativamente diferentes dos eliminados pelos cães infectados experimentalmente, pode se considerar com base na morfologia dos esporocistos, cistos e na transmissão biológica que a espécie encontrada nas fezes do cachorro-do-mato é *Sarcocystis cruzi*.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *Sarcocystis cruzi*, esporocistos, cistos, cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous*, cães, bovino.

### **INTRODUÇÃO**

Os animais silvestres são extremamente importantes na participação de infecções por coccídios (Lopes & Pereira 1987, Lopes 2002). Entre eles, o cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* assume papel preponderante na trans-

<sup>1</sup> Recebido em 3 de agosto de 2007.

Aceito para publicação em 4 de outubro de 2008.

<sup>2</sup> Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. Bolsista de Iniciação Científica do GNPq.

<sup>3</sup> Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ. Bolsistas da CAPES.

<sup>4</sup> DPA, IV, UFRRJ. Bolsistas do GNPq. \*Autor para correspondência: [lopescwg@ufrj.br](mailto:lopescwg@ufrj.br)



missão de coccídios por ser encontrado na América do Sul até o norte da Argentina exceto na bacia amazônica. Habita comumente áreas abertas, alteradas, campos e florestas (Pró-Carnívoros 2007).

Alguns destes animais têm uma relação muito estreita com os animais domésticos e acabam sendo parasitados, aparentemente, pelas mesmas espécies de coccídios. As doenças surgem ou recrudescem quando animais silvestres e domésticos passam a utilizar o mesmo território, principalmente onde a agropecuária é desenvolvida de maneira extensiva (Fayer 1980, Lopes 2002).

Diversas espécies de carnívoros silvestres são hospedeiras definitivas de *Sarcocystis* encontrados nos animais domésticos. Coiotes, raposas e guaxinins podem ser hospedeiros de *Sarcocystis cruzi* (Rommel et al. 1974, Fayer & Johnson 1975, Fayer et al. 1976), raposas de *S. tenella* (Ashford 1977) e cachorro-do-mato de *S. capracanis*, acometendo os caprinos (Pereira & Lopes 1982).

Este trabalho tem como objetivo contribuir para o conhecimento da importância do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) na disseminação de esporocistos de *Sarcocystis cruzi* no Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Origem dos animais e obtenção dos esporocistos de *Sarcocystis*

Segmentos do intestino delgado, duodeno, jejuno e íleo de um cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) foram coletados, sendo que este animal veio a óbito de causa não identificada no Centro de Triagem de Animais Selvagens (Cetas/Ibama/RJ), localizado no município de Seropédica, RJ. Este animal apresentava esporocistos de *Sarcocystis* no exame coprológico (Menezes & Lopes 1995) sendo as amostras de intestino delgado fixadas em formol 10% tamponado, pH 7,2, para a pesquisa de esporocistos. Após a coleta deste material, a mucosa dos segmentos intestinais foi raspada com uma lâmina de vidro e submetida à digestão conforme Dubey (1998) e a separação e obtenção de esporocistos conforme Menezes & Lopes (1995).

Um bezerro macho, de 12 dias de idade ainda em período de aleitamento, oriundo de uma propriedade rural localizada na zona oeste do município do Rio de Janeiro e mantido em um bezerreiro da Estação para Pesquisa Parasitológica W.O. Neitz da UFRRJ. Ao mesmo tempo, dois cães domésticos recentemente desmamados, e considerados livres de coccídios pelo exame coprológico segundo Menezes & Lopes (1995), foram mantidos em canis na mesma estação experimental, tendo recebido alimentação adequada à idade e água *ad libitum*.

### Infeção experimental

Um bezerro recebeu por via oral  $1,3 \times 10^4$  esporocistos/5mL, obtidos do raspado de mucosa do intestino delgado do cachorro-do-mato. Após 120 dias da infecção experimental este bezerro foi submetido a eutanásia, conforme normas do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro (CRMV-RJ 2003) e amostras de tecidos da musculatura cardíaca foram fixadas em formol a 10%, tamponado em pH 7,2, para análise histológica. O restante da musculatura cardíaca foi triturada e fornecida como alimento a um dos cães (Cão I) para determinação da especificidade da espécie de *Sarcocystis*

encontrada no cachorro-do-mato (Odening 1998). O Cão II foi alimentado com musculatura cardíaca triturada, obtida no matadouro de Barra Mansa, RJ, e positiva para cistos de *Sarcocystis cruzi*. Para este animal, também foram utilizados os mesmos procedimentos relatados para o cão I. Ao final do experimento, os cães foram submetidos a eutanásia, em conformidade com normas do CRMV-RJ (2003).

### Procedimentos laboratoriais

Exames de fezes de ambos os cães foram realizados diariamente por um período de 21 dias após a infecção experimental para determinação do período pré-patente e patente. Para a obtenção dos esporocistos eliminados nas fezes foi utilizada a técnica de centrífugo-flutuação em solução saturada de sacarose (Menezes & Lopes 1995) e para a mensuração dos mesmos foi utilizado um microscópio binocular (Carl Zeiss) com ocular micrométrica SK-15X (PZO).

Os exames histológicos das amostras dos segmentos do intestino delgado do cachorro-do-mato, dos cães domésticos, do músculo cardíaco procedente do bezerro infectado experimentalmente e do coração de bovino infectado naturalmente e obtido no matadouro foram processados, incluídos em parafina e corados em Hematoxilina-Eosina (HE) e PAS conforme técnica descrita por Behmer et al. (1976). As fotografias foram tiradas com auxílio de uma câmara digital (Sony) em um microscópio triocular (Zeiss, Jena) As análises de tendência central dos esporocistos e o teste *t* de Tukey foram determinados com base em Sampaio (2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As dimensões dos esporocistos (Fig.1a,b) oriundos do raspado de mucosa do cachorro-do-mato e dos cães infectados experimentalmente estão no Quadro 1. Houve diferenças significativas em nível de 5% no diâmetro maior dos esporocistos quando compara o eliminado pelo cachorro do mato em comparação aos eliminados pelos cães experimentalmente infectados. Poliformismo semelhante foi observado por Pereira et al. (2001) ao estudar as variações morfométricas de oocistos de *Hammondia heydorni* eliminados tanto por cachorro-do-mato como por cães domésticos infectados experimentalmente. Com base na morfometria dos esporocistos e morfologia dos cistos encontrados nas células da musculatura cardíaca e na especificidade quanto aos hospedeiros envolvidos, cão e bovino, infectados experimentalmente com esporocistos do cachorro do mato são semelhantes as citações de Fayer (1980), Tenter (1995) e Odening (1998) que o caracteriza como *Sarcocystis cruzi*, além dos períodos, pré-patente e patente serem semelhantes aos observados por Botelho & Lopes (1984) e Figueiredo et al. (1991) para a mesma espécie. Além disso, os cistos encontrados na infecção experimental do bezerro com os esporocistos procedentes do cachorro-do-mato (Fig.2a) foram semelhantes morfologicamente aos observados nas células da musculatura estriada cardíaca obtida de um coração bovino com infecção natural (Fig.2b) e sendo compatível com a descrição morfológica descrita por Figueiredo et al. (1991) em infecções naturais de células





Fig. 1. Esporocistos (→) de *Sarcocystis cruzi*: origem (a) cachorro-do-mato, (b) cão doméstico. Solução saturada de Açúcar, obj.100x.

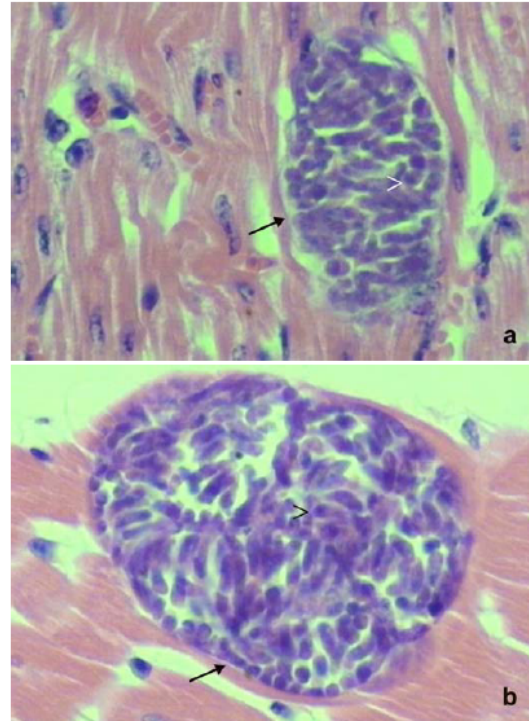


Fig. 2. Cistos de *Sarcocystis cruzi* nas células da musculatura estriada cardíaca de bovino, origem: (a) infecção experimental com esporocistos do cachorro-do-mato e (b) infecção natural. Parede externa do cisto fina (←) e presença de bradizoitas. HE, obj.40x.

da musculatura estriada cardíaca de um bovino, caracterizando-se o cisto por ter uma parede externa fina.

Na avaliação histopatológica da mucosa intestinal do cachorro-do-mato que veio a óbito no CETAS/Ibama o grau de autólise observado, dado ao longo período entre a sua morte e a necrópsia prejudicou a análise, porém esparsos oocistos podiam ser observados. Da mesma maneira, acentuado número de oocistos esporulados

**Quadro 1. Aspectos comparativos dos isolados de cachorro-do-mato e de cão doméstico para *Sarcocystis cruzi***

Esporocistos (mm) <sup>a</sup>	Hospedeiro definitivo		
	Cachorro-do-mato	Cão doméstico	
		I <sup>b</sup>	II <sup>c</sup>
Diâmetro maior	14,84±0,94 <sup>x</sup>	17,87±0,80 <sup>y</sup>	17,44±0,82 <sup>y</sup>
Diâmetro menor	11,29±1,88 <sup>y</sup>	12,03±0,59 <sup>y</sup>	11,60±0,66 <sup>y</sup>
Índice morfológico	1,31±0,04 <sup>y</sup>	1,48±0,06 <sup>y</sup>	1,50±0,05 <sup>y</sup>

<sup>a</sup> Número de 10 esporocistos medidos. Letras diferentes (x,y) na mesma linha significantes em nível de 5% pelo teste t de Tukey.

<sup>b</sup> Infectado experimentalmente com cistos de um bovino que recebeu esporocistos do cachorro do mato.

<sup>c</sup> Infectado experimentalmente com cistos de um bovino infectado naturalmente.

(Fig.3) puderam ser vistos abaixo da camada epitelial do intestino delgado nos Cães I e II infectados experimentalmente, porém sempre localizados nas extremidades das vilosidades intestinais. Não foram observadas lesões dignas de nota associadas à infecção por *Sarcocystis*, que segundo Fernando (1982), as lesões causadas por *Sarcocystis* são mais freqüentemente observadas nos hospedeiros intermediários, associadas às formas merogônicas localizadas no endotélio dos vasos sanguíneos, o que faz dos canídeos excelentes hospedeiros definitivos por não adoecerem da infecção e eliminarem grande quantidade de esporocistos em suas fezes.

Com base nos dados obtidos, os esporocistos encontrados nas fezes do cachorro-do-mato são da espécie *Sarcocystis cruzi* por ter esta espécie ter como hospedeiros definitivo e intermediário canídeos e bovinos respectivamente o que foi determinado experimentalmente por este trabalho.

## REFERÊNCIAS

Behmer O.A., Tolosa E.M.C. & Freitas Neto A.G. 1976. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica. EDART, São Paulo. 256p.



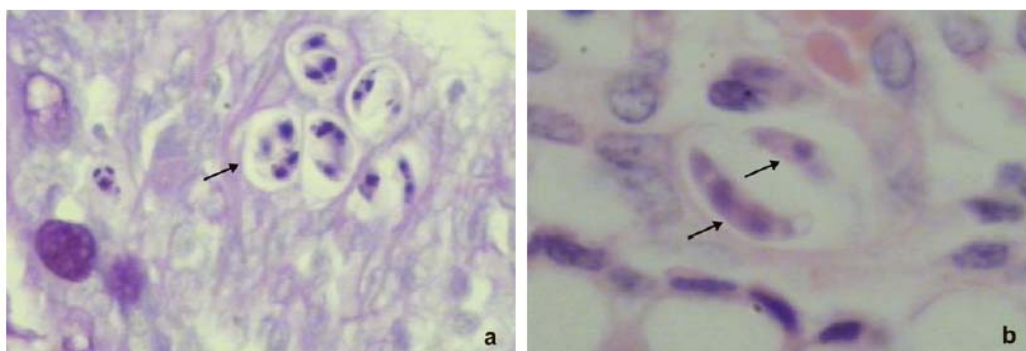


Fig.3. Íleo do cão doméstico infectado experimentalmente com cistos do bovino infectado experimentalmente. Esporocistos com esporozoítas (→) localizados na lâmina própria de uma vilosidade. PAS, (a) obj.20x, (b) obj.100x.

Botelho G.G. & Lopes C.W.G. 1984. Esporocistos de *Sarcocystis cruzi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em linfonodos mesentéricos de cães. Arqs Univ. Fed. Rur., Rio de J., 7:87-88.

GRMV-RJ 2003. Resoluções. Acesso: <[www.crmvrj.com.br/legisla/text/res714.htm](http://www.crmvrj.com.br/legisla/text/res714.htm)>. Capturado em 22 jul. 2003.

Dubey J.P. 1998. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. Vet. Parasitol., 74: 75-77.

Fernando M.A. 1982. Pathology and pathogenicity, p.287-327. In: Long P.L. (Ed.), The Biology of the Coccidia. University Park Press, Baltimore.

Figueiredo P.C., Lopes C.W.G. & Serra-Freire N.M. 1991. Espécies do gênero *Sarcocystis* Lankaster, 1882 (Apicomplexa: Sarcocystidae), parasitas de ruminantes domésticos que têm o cão como hospedeiro definitivo. Arqs Univ. Fed. Rur., Rio de J., 14:1-12.

Lopes C.W.G. 2004. O gênero *Sarcocystis* (Lankaster, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. Revta Bras. Parasitol. Vet. 13(Supl.1):14-16.

Lopes C.W.G. & Pereira M.J.S. 1987. Infection of a crab-eating fox

(*Cerdocyon thous*) by *Hammondia heydorni* (Apicomplexa: Sarcocystidae) from a goat. Arqs Univ. Fed. Rur., Rio de J., 10:1-2.

Menezes R.C.A.A. & Lopes C.W.G. 1995. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na microrregião serrana-fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. Revta Univ. Rural, Ser. Ciênc. Vida, 17:5-12

Odening K. 1998. The present state of espécies-systematics in *Sarcocystis* Lankaster, 1882 (Protista, Sporozoa, Coccidia). Syst. Parasitol. 41:209-233.

Pereira M.J.S. & Lopes C.W.G. 1982. The crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) as a final host for *Sarcocystis capracanis* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in Brazil. Arqs Univ. Fed. Rur., Rio de J. 10:75-78.

Pró-Carnívoros 2007. Gachorro-do-mato. Acesso: <[www.procarnivoros.org.br/animais\\_cac.htm](http://www.procarnivoros.org.br/animais_cac.htm)>. Capturado em 18 jul. 2007.

Sampaio I.B.M. 2002. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. 2ª ed. FEPMVZ, Belo Horizonte. 265p.

Terter A. 1995. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. Int. J. Parasitol., 25:1311-1330

**AVALIAÇÃO DO INTESTINO DELGADO E LINFONODOS MESENTÉRICOS DE  
CÃES (*Canis familiaris*) INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM  
*Sarcocystis cruzi* (HASSELMAN, 1923) WENYON, 1926 (APICOMPLEXA:  
SARCOCYSTIDAE)\***

GISELE S. DE MEIRELES<sup>1</sup>; ELAN C. PAES-DE-ALMEIDA<sup>2</sup>; PAULO ROBERTO CARVALHO FILHO<sup>3</sup>; WALTER FLAUSINO<sup>3</sup>; JANAINA DA S. RODRIGUES<sup>1</sup>; ANA MARIA R. FERREIRA<sup>4</sup>; CARLOS WILSON G. LOPES<sup>3</sup>

**ABSTRACT:**- MEIRELES, G.S. DE; PAES-DE-ALMEIDA, E.C.; CARVALHO FILHO, P.R. DE; FLAUSINO, W.; RODRIGUES, J. DA S.; FERREIRA, A.M.R.; LOPES, C.W.G. [Evaluation of small intestine and mesenteric lymph nodes of dogs (*Canis familiaris*) experimentally infected by *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae)]. Avaliação do intestino delgado e linfonodos mesentéricos de cães (*Canis familiaris*) infectados experimentalmente com *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl.1, p. 331-334, 2008. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: lopescw@ufrj.br

Species of the genus *Sarcocystis* are considered as important parasites of domestic animals. Dogs are considered as definitive host for a variety species of *Sarcocystis*, when they fed on intermediated host tissues cysts shed sporocysts in their feces. Grinded bovine cardiac muscles, positive for *Sarcocystis cruzi* was given to two puppies free of coccidia. Both animals shed sporocysts in their feces at 12 days after infection (DAI). These sporocysts measured  $17.44 \pm 0.82$   $11.60 \pm 0.66$   $\mu\text{m}$  with shape index of  $1.50 \pm 0.05$ . At 23 DAI, these animals were posted and samples of the small intestine, such as: duodenum, jejunum, ileum and mesenteric lymph nodes were collected. In the analysis of small intestine, sporocysts were observed under de mucosa and they were characterized by sporulated sporocysts with sporozoites. Lesions were consisted of discrete edema and plasmocytic cells infiltrations which they were associated to a minimal inflammatory reaction in the presence of parasitic stages. On the other hand, sporocysts were observed at the cortical region near of lymphatic vessels adjacent to mesenteric lymph nodes capsule. It indicated the involvement of the lymphatic vessels in the sporocysts dispersion in the dog mesenteric lymph nodes.

**KEY WORDS:** *Sarcocystis*, dogs, small intestine, mesenteric lymph nodes, histopathology.

\* Sob os auspícios do CNPq.

<sup>1</sup> Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica RJ 23890-000, Brasil. E-mail: giselesm@ufrj.br, carvalhofilho@ufrj.br, carvalhofilho@gmail.com e jajasoledad@gmail.com - bolsistas Capes e CNPq.

<sup>2</sup> Universidade do Grande Rio, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ 24440-370, Brasil. E-mail: elancardozo@superig.com.br

<sup>3</sup> Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-00, Brasil. E-mail: flausino@ufrj.br e lopescw@ufrj.br - bolsista CNPq.

<sup>4</sup> Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFF, Vital Brazil, Niterói, RJ. E-mail: anaferreira@pq.cnpq.br - bolsista CNPq

**RESUMO**

Espécies do gênero *Sarcocystis* são consideradas com importantes parasitos dos animais domésticos. Cães são considerados com hospedeiros definitivos para uma variedade de espécies de *Sarcocystis*, quando estes se alimentam de cistos teciduais dos hospedeiros intermediários eliminam em suas fezes esporocistos. Amostras de musculatura cardíaca positivas para sarcocistos de *S. cruzi* foram dados a dois cachorrinhos livres de coccídios, eles eliminaram em suas fezes esporocistos aos 12 dias após infecção (DAI). Estes esporocistos mediram  $17,44 \pm 0,82$   $11,60 \pm 0,66$   $\mu\text{m}$  com índice morfomé-



trico de  $1,50 \pm 0,05$ . Aos 23 DAI, estes animais foram necropsiados e amostras do intestino delgado como duodeno, jejuno, íleo e linfonodos mesentéricos foram coletadas. Na análise do intestino delgado, esporocistos foram observados abaixo da mucosa e caracterizados como esporulados contendo esporozoítos. As lesões foram constituídas por um discreto edema e infiltração plasmocitária o que está relacionado a uma mínima reação inflamatória pela presença das fases parasitárias. Por outro lado, esporocistos esporulados também foram observados na região cortical próximo a vasos linfáticos adjacentes a cápsula dos linfonodos mesentéricos. Isto indica que há participação dos vasos linfáticos na dispersão dos esporocistos nos linfonodos mesentéricos de cães.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Sarcocystis*, cães, intestino delgado, linfonodos mesentéricos, histopatologia.

A sarcocistose vem sendo considerada como uma importante doença parasitária do sistema vascular nos animais de produção (LOPES, 2004; LOPES et al., 2005) sendo que algumas espécies da família Sarcocystidae são consideradas como zoonose emergente (SLIFKO et al., 2000). *Sarcocystis* é um gênero que possui como hospedeiros definitivos (HD) predadores carnívoros e onívoros, em especial o cão e o gato, e como hospedeiros intermediários (HI), herbívoros ou onívoros, especialmente ruminantes (DUBEY, 1976; FIGUEIREDO et al., 1991; TENTER, 1995; LOPES, 2004). Os HI adquirem a infecção por ingestão de esporocistos ou oocistos esporulados que são eliminados nas fezes do HD infectado, que por sua vez tornam-se infectados por ingestão da forma cística do parasito localizada na musculatura do HI (DUBEY, 1976; TENTER, 1995). As fases do ciclo evolutivo de *Sarcocystis* são bem conhecidas, principalmente em espécies que envolvem animais de produção onde o cão é considerado como HD de espécies de *Sarcocystis* mais patogênicas (LOPES, 2004), entre elas *S. cruzi* em bovinos, *S. levinei* em búfalo, *S. capracanis* e *S. hircicanis* em caprinos, *S. tenella* em ovinos e *S. miescheriana* em suínos (TENTER, 1995; ODENING, 1998). A distribuição da sarcocistose em animais de produção é cosmopolita (LOPES, 2004), porém a prevalência mundial nos cães varia de acordo com o país, período e metodologia utilizada. A recuperação e identificação dos esporocistos de *Sarcocystis* são geralmente realizadas em levantamentos de parasitos intestinais (OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2002; FONTANARROSA et al., 2006; LÓPEZ et al., 2006; MARTÍNEZ-MORENO et al., 2006; SAGER et al., 2006). Alguns relatos da observação de esporocistos em cães através de digestão dos linfonodos mesentéricos foram assinalados por Shimura et al. (1981) e por Botelho e Lopes (1984). Esse trabalho teve como objetivo descrever a presença de esporocistos no intestino delgado e linfonodos mesentéricos de cães experimentalmente infectados.

Dois cães desmamados, sem raça definida, de ambos os sexos, dois meses de idade e livres de parasitos foram exa-

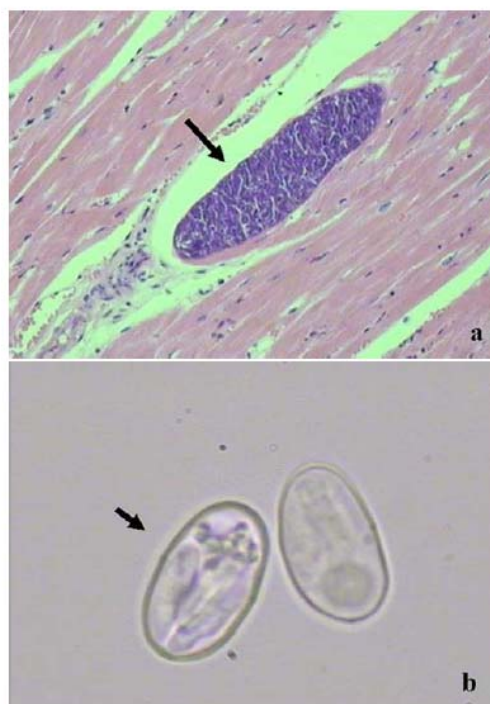


Figura 1. *Sarcocystis cruzi*. Cisto (→) localizado em musculatura cardíaca de um bovino (a). H.E., 100X. Esporocistos (→) (b). Solução saturada de açúcar. 1000X.

minados por 15 dias, antes de serem infectados. Esses animais foram mantidos em gaiolas isoladas próprias para a espécie com água e ração *ad libitum*.

O material infectante foi obtido de um bovino no matadouro de Barra Mansa, RJ e constituído de duas amostras de 100g de triturado de coração de bovino positivo para bradizoítas de *Sarcocystis*. Previamente a trituração do coração bovino, pedaços foram retirados e fixados em formol histológico a 10% para posterior identificação da espécie dos cistos encontrados onde foram compatíveis com a morfologia de *S. cruzi* quando examinados (Figura 1a). As amostras foram dadas a cada um dos cães por via oral. As fezes obtidas desses animais foram examinadas por um período de 23 DAI para pesquisa de esporocistos nas fezes conforme Figueiredo et al. (1991). A seguir os dois animais foram necropsiados com base no Cobeia (2008) onde seções dos linfonodos mesentéricos e do intestino delgado como: duodeno, jejuno e íleo foram separados, fixadas em formol histológico a 10%, emblocadas em parafina e coradas em HE e PAS conforme Behmer et al. (1976) inclusive as amostras de musculatura cardíaca do bovino.

Os cães começaram a eliminação de esporocistos (Figura 1b) nas fezes ao 11º DAI. A média de eliminação foi de 8,0 X



10<sup>5</sup> esporocistos por grama de fezes onde os diâmetros maior e menor mediram em média 17,44 ± 0,82 e 11,60 ± 0,66 µm, respectivamente, com índice morfométrico de 1,50 ± 0,05 características compatíveis para esporocistos de *S. cruzi* (Figura 1b) conforme Botelho e Lopes (1988) e Figueiredo et al. (1991).

Na análise do intestino delgado foram evidenciadas nos segmentos de mucosa do duodeno, jejuno e íleo congestão, discreto a moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, principalmente adjacente às células apicais das criptas intestinais onde havia oocistos esporulados, com esporocistos e esporozoítas de *S. cruzi* (Figura 2) localizados no ápice das criptas da mucosa intestinal, abaixo do epitélio de revestimento, onde foram mais bem evidenciados com auxílio do PAS. Hiperplasia de foliculo linfóide, havendo focos com migração de células linfóides em direção as criptas intestinais. Os relatos da literatura descrevem lesões e achados microscópicos em hospedeiros intermediários principalmente em herbívoros e onívoros, havendo escassas informações sobre as lesões em hospedeiros definitivos, particularmente cães (SHIMURA et al., 1981; BOTELHO; LOPES, 1984; LOPES, 2004). Existem alguns estudos de *Sarcocystis* em cães que relatam apenas a presença de oocistos e esporocistos no in-

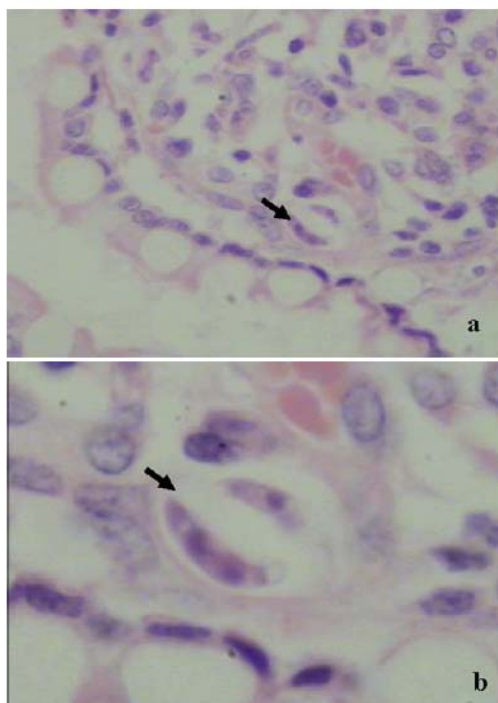


Figura 2. *Sarcocystis cruzi*. Presença de esporocistos (→) abaixo da mucosa intestinal do íleo de um cão (a). 400X. Aumento maior da figura 2a (b). 1000X. PAS.

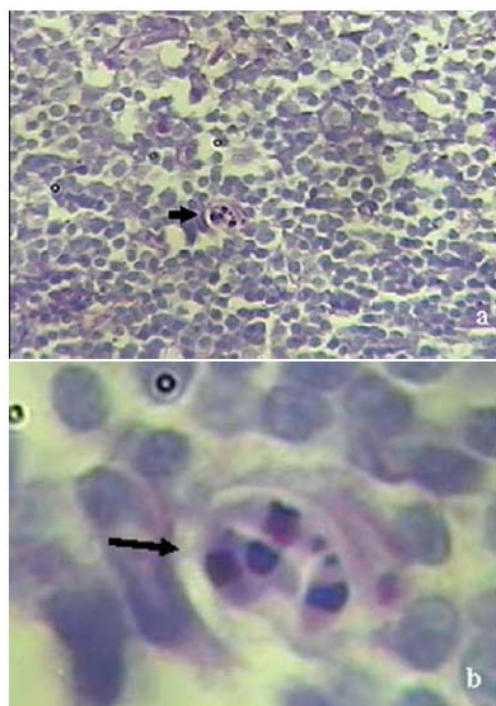


Figura 3. *Sarcocystis cruzi*. Esporocisto (→) na córtex de um linfonodo mesentérico de cão. (a) 400X. Aumento maior da figura 3a (b). 1000X. PAS.

testino delgado, analisados por microscopia óptica (GARDINER et al., 1988; WADJKAR et al., 1993) inclusive para *S. capracanis*. Os relatos recentes estão associados a levantamentos de parasitos gastrintestinais (OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2002; FONTANARROSA et al., 2006; LABRUNA et al., 2006; LÓPEZ et al., 2006; SAGER et al., 2006; MARTÍNEZ-MORENO et al., 2007) onde esporocistos de *Sarcocystis* estão assinalados.

Nos linfonodos mesentéricos foram observados na região cortical alguns folículos primários evidentes e na região medular havia rarefação celular. Ainda na região cortical, próximo aos vasos linfáticos aferentes que drenam linfa dos tecidos regionais foram evidenciados na coloração de PAS esporocistos e esporozoítas de *S. cruzi* (Figura 3). Existem poucos relatos da observação de esporocistos em linfonodos mesentéricos de cães (SHIMURA et al., 1981; BOTELHO; LOPES, 1984). Esses autores citam a presença dos esporocistos extraintestinais em achados por digestão enzimática dos linfonodos mesentéricos sem, contudo observá-los no parênquima dos linfonodos. A investigação dessa coccidiose no cão através de análise histológica vem contribuir para melhor entendimento sobre as localizações teciduais e das alterações patológicas na mucosa do intestino delgado do cão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C. DE; FREITAS NETO, A.G.DE. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART. 1976. 256p.
- BOTELHO, G.G.; LOPES, C.W.G. Esporocistos de *Sarcocystis cruzi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em linfonodos mesentéricos de cães. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 7, n. 1, p. 87-88, 1984.
- BOTELHO, G.G.; LOPES, C.W.G. Aspectos parasitológicos do *Sarcocystis cruzi* (Hasselman, 1926) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em infecções experimentais em cães e bezerros. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 11, n. 1-2, p. 1-10, 1988.
- COBEA, Legislação e ética. Disponível em: <<http://www.unb.br/ib/cena/COBEA.htm>>. Acesso em: 16 Abr. 2008.
- DUBEY, J.P. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.169, n.10, p.1061-1078, 1976.
- FIGUEIREDO, P.C.; LOPES, C.W.G.; SERRA-FREIRE, N.M. Espécies do Gênero *Sarcocystis* Lankester, 1882 (Apicomplexa: Sarcocystidae) parasitas de ruminantes domésticos que tem o cão como hospedeiro definitivo. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 14, n. 1, p. 1-12, 1991.
- FONTANARROSA MF, VEZZANI D, BASABE J, EIRAS DF. Na epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Veterinary Parasitology*, v. 136, n. 3-4, p. 283-95, 2006.
- GARDINER, C.H.; FAYER, R.; DUBEY, J.P. *An atlas of protozoan parasites in animal tissues*. Agriculture handbook nº 651. Beltsville: ARS. 1988. 83p.
- LABRUNA, M.B.; PENA, H.F.J.; SOUZA, S.L.P.; PINTER, A.; SILVA, J.C.R. DA; RAGOZO, A.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 73, n. 2, p. 183-193, 2006.
- LOPES, C.W.G. O gênero *Sarcocystis* (Lankester, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.13, supl.1, p.14-16, 2004.
- LOPES, C.W.G., SÁ, W.F. DE; BOTELHO, G.G. Lesões em vacas mestiças gestantes, infectadas experimentalmente com *Sarcocystis cruzi* (Hasselman, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.14, n. 2, p. 79-83, 2005.
- LÓPEZ, D.J.; ABARCA, V.K.; PAREDES, M.P.; INZUNZA, T.E. Intestinal parasites in dogs and cats with gastrointestinal symptoms in Santiago, Chile. *Revista de Medicina de Chile*, v. 134, n. 2, p. 193-200, 2006.
- MARTÍNEZ-MORENO, F.J.; HERNÁNDEZ, S.; LÓPEZ-COBOS, E.; BECERRA, C.; ACOSTA, I.; MARTÍNEZ-MORENO, A. Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, v. 143, n. 1, p. 7-13, 2007.
- ODENING, K. The present state of species-systematics in *Sarcocystis* Lankester, 1882 (Protista, Sporozoa, Coccidia). *Systematic Parasitology*, v. 41, n. 3, p. 209-233, 1998.
- OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.; AMARANTE, A.F.; FERRARI, T.B.; NUNES, L.C.; Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 103, n. 1-2, p.19-27, 2002.
- SAGER, H.; MORET, C.S.; MÜLLER, N.; STAUBLI, D.; ESPOSITO, M.; SCHARES, G.; HÄSSIG M.; STÄRK, K.; GOTTSTEIN, B.; Incidence of *Neospora caninum* and other intestinal protozoan parasites in populations of Swiss dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 139, n. 1-3, p. 84-92, 2006.
- SHIMURA, E.; ITO, S.; TSUNODA, K. Sporocysts of *Sarcocystis cruzi* in mesenteric lymph nodes of dogs. *National Institute of Animal Health Quarterly*, v. 21, n. 2, p. 186-187, 1981.
- SLIFKO, T.R.; SMITH, H.V.; ROSE, J.B. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 12-13, p.1379-1393, 2000.
- TENTER, A.M. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. *International Journal for Parasitology*, v. 25, n. 11, p.1311-1330, 1995.
- WADAJKAR, S.V.; SHASTRI, U.V.; NARLADKAR, B.W. A note on the development of *Sarcocystis capracanis* in pups. *Journal of Veterinary Parasitology*, v.7, n. 2, p. 121-123, 1993.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.



***Eimeria bareillyi* FROM THE DOMESTIC WATER BUFFALO, *Bubalus bubalis*, IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL\***

*Eimeria bareillyi* DO BÚFALO DOMÉSTICO, *Bubalus bubalis*, NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

Landreani Ramirez<sup>1</sup>; Bruno Pereira Berto<sup>1</sup>; Walter Leira Teixeira Filho<sup>2</sup>; Walter Flausino<sup>2</sup>; Gisele Santos de Meireles<sup>3</sup>; Janaina da Soledad Rodrigues<sup>4</sup>; Cláudio Rogério Rocha Almeida<sup>5</sup> and Carlos Wilson Gomes Lopes<sup>6</sup>

**ABSTRACT.** Ramirez, L.; Berto, B.P.; Teixeira Filho, W.L.; Flausino, W.; Meireles, G. S. de; Rodrigues, J. da S.; Almeida, C.R.R. & Lopes, C.W.G. *Eimeria bareillyi* from the domestic water buffalo, *Bubalus bubalis*, in the State of Rio de Janeiro, Brazil. [*Eimeria bareillyi* do búfalo doméstico, *Bubalus bubalis*, no estado do Rio de Janeiro, Brasil.] *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 31(4):261-264, 2009. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: landrynana@hotmail.com

This study reports domestic water buffalos, *Bubalus bubalis*, parasitized by *Eimeria bareillyi*. Its oocysts were pyriform, with smooth, bilayered wall, 29.5 (27-33) x 21.3 (20-24) µm length and width respectively. Micropyle was present, without a micropyle cap. Polar granule and oocyst residuum were absent. Sporocysts were elongating ellipsoidal. Stieda body was present; however, substieda and parastieda bodies were absent. Sporocyst residuum was present and sporozoites presented a refractile body and a nucleus. Sporulated oocysts of *E. bareillyi* were uniform in their distribution, evidencing the presence of a single species in spite of polymorphic in its shape.

**KEY WORDS.** Morphology, sporulated oocysts, coccidia, *Bubalus arnee*, Bovidae, Rio Claro.

**RESUMO.** Este estudo relata búfalos domésticos, *Bubalus bubalis*, parasitados por *Eimeria bareillyi*. Seus oocistos foram piriformes, com parede lisa e dupla, 29,5 (27-33) x 21,3 (20-24) µm de diâmetros, maior e menor respectivamente. Micrópila estava presente sem capuz polar. Grânulo polar e resíduo, estavam ausentes. Os esporocistos foram elipsóides alongados. Corpo de Stieda presente, porém, corpos de substieda e parastieda ausentes. O resíduo do esporocisto estava presente e os esporozoítas possuíam um corpo refrátil e um núcleo. Oocistos desta espécie de coccídia são uniformes em sua distribuição, evidenci-

ando a presença de uma só espécie, apesar de serem polimórficos quanto a sua forma.

**PALAVRAS-CHAVE.** Morfologia, oocistos esporulados, coccídios, *Bubalus arnee*, Bovidae, Rio Claro.

**INTRODUCTION**

The buffalo is a large bovine animal, frequently used as livestock in Asia, South America, Europe and Africa. In 2000, the United Nations Food and Agriculture Organization estimated that there were approximately 158 million buffalo in the world (Nowak & Paradiso, 1983; Clutton-Brock, 1999; Wilson & Reeder, 2005).

\* Accepted for publication on June 26, 2009.

<sup>1</sup>Bióloga, MSc, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: landrynana@hotmail.com and bertobp@ufrj.br

<sup>2</sup>Biólogo, PhD, Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ, Seropédica, RJ. E-mail: leira@ufrj.br and flausino@ufrj.br

<sup>3</sup>Médica-veterinária, M.Sc. CPGCV, UFRRJ, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ. E-mail: gisele.meireles@gmail.com - CNPq scholarship.

<sup>4</sup>Médico-veterinária, CPGCV, UFRRJ, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: jajasoledad@gmail.com - CAPES scholarship.

<sup>5</sup>Médico-veterinário, EMATER-Rio Claro, Avenida Independência, 279, Rio Claro, RJ 27460-000, Brasil.

<sup>6</sup>Médico-veterinário, PhD, LD, DPA, IV, UFRRJ, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: lopescw@ufrj.br - CNPq fellowship.

There are established feral populations in Australia but the dwindling true wild populations are thought to survive in India, Nepal, Bhutan and Thailand. All the domestic varieties and breeds descend from one common ancestor, the wild Asian water buffalo, which is now an endangered species (Nowak & Paradiso, 1983; Clutton-Brock, 1999; Wilson & Reeder, 2005).

There are some scientific names for these animals; however, the International Commission on Zoological Nomenclature ruled that the name for wild species is not invalid by virtue of its being antedated by a name based on a domestic form. Therefore, the International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) considers the wild forms of water buffalo under *Bubalus arnee* Kerr, 1792, while the domestic forms are considered under *B. bubalis* Linnaeus, 1758 (Gentry et al., 2004; Wilson & Reeder, 2005).

Coccidiosis associated with the genus *Eimeria* Schneider, 1881 are frequently reported from buffalos (Barbosa, 1992; Noronha et al., 2009). Duszynski et al. (2001) recognize 13 eimerid coccidian parasites of water buffalos: *Eimeria zuernii* (Rivolta, 1878) Martin, 1909; *E. bovis* (Züblin, 1908) Fiebiger, 1912;

*E. canadensis* Bruce, 1921; *E. bukidnonensis* Tubangui, 1931; *E. cylindrica* Wilson, 1931; *E. thianethi* Gwéléssiany, 1935; *E. auburnensis* Christensen, Porter, 1939; *E. brasiliensis* Torres, Ramos, 1939; *E. alabamensis* Christensen, 1941; *E. gokaki* Rao, Bhatavdekar, 1959; *E. ovoidalis* Ray, Mandal, 1961; *E. bareillyi* Gill, Chhabra, Lala 1963; and *E. ankarensis* Sayin, 1969.

Experimentally, *E. bareillyi* was found to be pathogenic and, recently, it was associated to death of a three-week-old buffalo calf (Dubey et al., 2008)

The aim of this study was report *E. bareillyi* parasitizing domestic water buffalos, *B. bubalis*, in the Municipality of Rio Claro, Rio de Janeiro State, Brazil.

#### MATERIALS AND METHODS

Samples were collected from 33 domestic water buffalos of farms located in Rio Claro City (22° 43' S and 44° 08' W), Rio de Janeiro State, Brazil. Fecal samples were collected manually from the rectum of adults and calves, placed into plastic vials containing potassium dichromate solution 2.5% ( $K_2Cr_2O_7$ ) (1:6 w/v), and they were carried to Laboratório de Coccídios e Coccidioses located at Universidade Federal

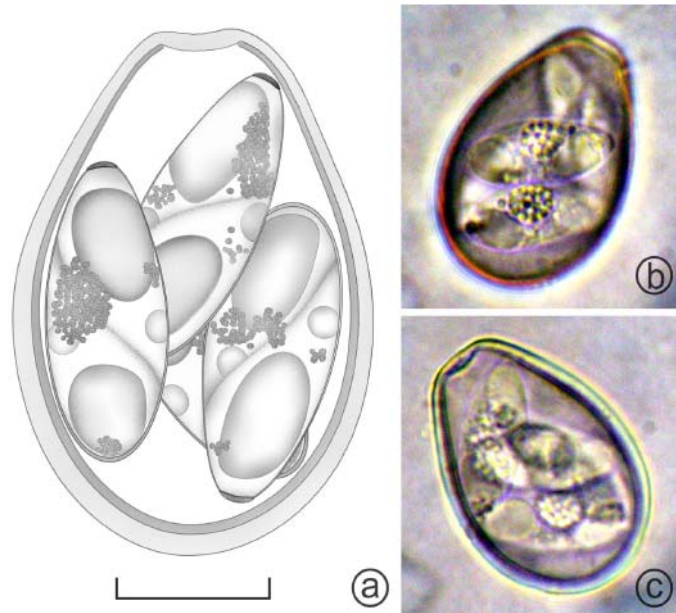


Figure 1. Line drawing (a) and photographs (b, c) of *Eimeria bareillyi*, a coccidium species recovered of buffalos, *Bubalus bubalis*, from Rio Claro City, Rio de Janeiro State, Brazil. Scale-bar: 10 $\mu$ m for line drawing; and 20 $\mu$ m for photographs.



Rural do Rio de Janeiro. Samples were placed in a thin layer (~ 5 mm) of  $K_2Cr_2O_7$  2.5% solution in Petri plates, and incubated at 23-28°C for 10 days or until 70% of oocysts were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (sp.g. 1.20) and examined microscopically using a technique described by Duszynski & Wilber (1997). Morphological observations and measurements, in  $\mu$ m, were performed using a binocular microscope Carl Zeiss with apochromatic oil immersion objective lens and ocular micrometer K-15X PZO (Poland). Line drawing was prepared using a binocular microscope Wild M-20 with drawing tube. Pictures were taken using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®. Size ranges are in parenthesis followed by average and shape index (length/width). Linear regression and histograms were performed using the software Excel XP (Microsoft Co., Redmond, WA, USA), based on Sampaio (2002).

**RESULTS AND DISCUSSION**

Thirty three domestic water buffalos were examined; three of them shed oocysts in the feces. These positive animals were healthily calves. Initially, the oocysts were non-sporulated, while 70% sporulated by day still sporulated at 25 days.

Sixty five sporulated oocysts (Figure 1) were observed and measured. They were pyriform, with smooth, bilayered wall, ~1.3  $\mu$ m. Micropyle was present, ~1.8 high  $\times$  4.9 wide, without a micropyle cap. Polar granule and oocyst residuum were absent. Sporocysts were elongate ellipsoidal, with a smooth, thin, single-layered wall. Stieda body was flattened and delicate, ~0.4 high  $\times$  2.1 wide. Substieda and parastieda bodies were absent. Sporocyst residuum usually formed a mass of granules; however, sometimes some scattered granules were present. Sporozoites with one posterior refractile body and a nucleus.

Table 1. Measurements of sporulated oocysts of *Eimeria bareillyi*, a coccidium species recovered of buffalos, *Bubalus bubalis*.

Oocyst descriptions	Values					
	Oocysts <sup>a</sup>			Sporocysts <sup>d</sup>		
	Length	Width	Shape index	Length	Width	Shape index
Gill et al. (1963) <sup>a</sup>	30.8 (26-35)	21.6 (19-25)	-	18	8	-
Dubey et al. (2008) <sup>b</sup>	27.2 (23.2-9.5)	19.3 (16.5-22)	1.38 (1.26-1.57)	-	-	-
Current study <sup>c</sup>	29.5 (27-33)	21.3 (20-24)	1.4 (1.2-1.6)	16.4 (13-19)	7.2 (6-8)	2.3 (1.7-3.0)

<sup>a</sup>Samples from India, original description; <sup>b</sup>from Netherlands; <sup>c</sup>from Brazil and <sup>d</sup>Length and width in  $\mu$ m.

These oocysts were closely resembled with *E. bareillyi*, originally described from buffalos in India by Gill et al. (1963). Table 1 shows the measurements of the oocysts recovered in the current study; in the original description of Gill et al. (1963); and in the recent report of fatal coccidiosis of a three-week-old buffalo calf by Dubey et al. (2008).

Analyzing Figure 2, frequencies in the classes increase and diminish gradually, or either, the oocysts measurements are grouped in lesser amount in the limits of the values and larger amount in the medium values. Thus, these measurements showed uniforms in their distribution, evidencing the presence of a single species.

Oppositely, the linear regression (Figure 3) showed a non-uniform distribution, with R<sup>2</sup> value less than 0.5, and so revealed the polymorphism of this species. Similar methodology and results were

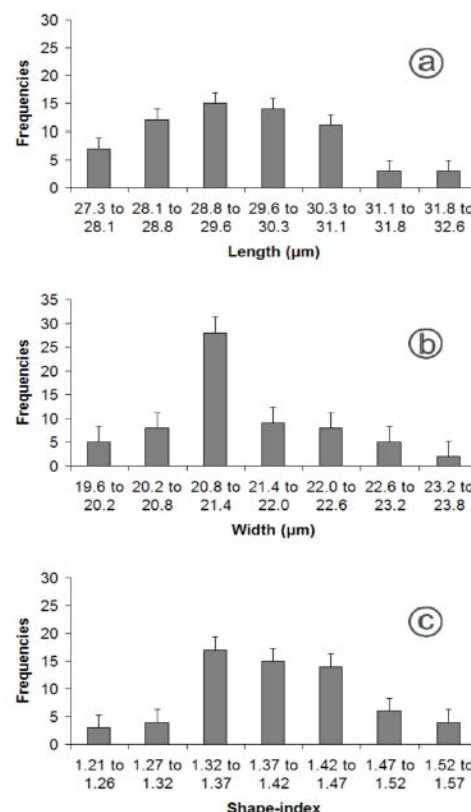


Figure 2. Frequencies in the distribution of the sporulated oocysts of *Eimeria bareillyi* recovered from fecal samples of buffalos, *Bubalus bubalis*, from the Municipality of Rio Claro, Rio de Janeiro State, Brazil. (a) Length, (b) width and (c) shape-index.



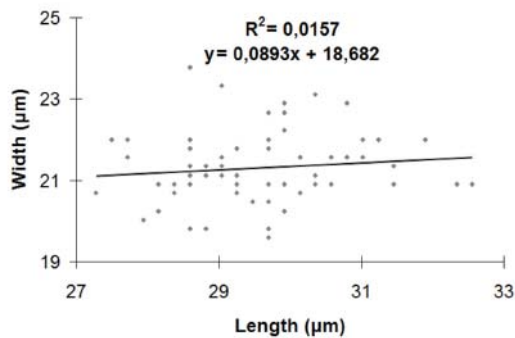


Figure 3. Distribution of the sporulated oocysts of *Eimeria bareillyi* recovered from fecal samples of buffalos, *Bubalus bubalis*, from the Municipality of Rio Claro, Rio de Janeiro State, Brazil.

obtained from studies of eimerid coccidian parasites of fowls by Norton & Joyner (1981) and Joyner (1982); *Hammondia heydorni* (Tadros, Laarman, 1976) Dubey, 1977 oocysts by Pereira et al. (2001); *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 oocysts by Berto et al. (2008a); and *Isospora hemidactyli* Carini, 1936 oocysts by Berto et al. (2008b).

#### REFERENCES

- Barbosa, M.A.; Blasi, A.C.; Oliveira, M.R. & Correa, F.M.A. Natural parasitism of buffaloes in Botucatu, SP, Brazil. III. Dynamics of gastrointestinal parasitism in cows and their calves. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 87: 37-41, 1992.
- Berto, B.P.; Flausino, W.; Almeida, C.R.R. & Lopes, C.W.G. Polymorphism of *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) oocysts from the greylag geese *Anser anser* L., 1758 conditioned in two distinct sites. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 30: 215-219, 2008.
- Berto, B.P.; Lopes, B. do B.; Flausino, W.; Teixeira-Filho, W.L. & Lopes, C.W.G. Contribution on the study of *Isospora hemidactyli* Carini, 1936 and a report of an adeleid pseudoparasite of the house gecko *Hemidactylus mabouia*, from the Rio de Janeiro Metropolitan Region, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17: 150-154, 2008.
- Clutton-Brock, J. *A Natural History of Domesticated Mammals*. Cambridge University Press, Cambridge. 1999, 238p.
- Dubey, J.P.; Wouda, W. & Muskens, J. Fatal intestinal coccidiosis in a three-week-old buffalo calf (*Bubalus bubalis*). *J. Parasitol.*, 94: 1289-1294, 2008.
- Duszynski, D.W. & Wilber, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *J. Parasitol.*, 83: 333-336, 1997.
- Duszynski, D.W.; Upton, S.J. & Couch, L. The Coccidia of Bovidae, 2001. Disponível on: <<http://biology.unm.edu/biology/coccidia/artiodact1.html>>. Accessed on: Jun. 24, 2009.
- Gentry, A.; Clutton-Brock, J. & Groves, C.P. The naming of wild animal species and their domestic derivatives. *J. Archaeol. Sci.*, 31: 645-651, 2004.
- Gill, B.S.; Chhabra, M.B. & Lall, N.B. A new species of coccidium, *Eimeria bareillyi* n. sp. from buffaloes. *Arch. Protistenked*, 106: 571-574, 1963.
- Joyner, L.O. Host and Site specificity. In: Long P.L. (Ed.), *The biology of the Coccidia*. University Park Press, Baltimore, 1982. p. 35-62.
- Noronha, A.C.F.; Starke-Buzetti, W.A. & Duszynski, D.W. *Eimeria* spp. in Brazilian Water Buffalo. *J. Parasitol.*, 95: 231-234, 2009.
- Norton, C.C. & Joyner, L.P. *Eimeria acervulina* and *E. mivati*: oocysts, life-cycle and ability to develop in the chicken embryo. *Parasitology*, 83: 269-279, 1981.
- Nowak, R.M. & Paradiso, J.L. *Walker's Mammals of the World*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 1983, 1629 p.
- Pereira, M.J.S.; Fonseca, A.H. & Lopes, C.W.G. Regressão linear na caracterização de variações morfométricas em Coccidia. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 10: 75-78, 2001.
- Sampaio, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. FEP MVZ, Belo Horizonte. 2002, 265p.
- Wilson, D.E. & Reeder, D.M. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2005, 2000 p.

## Anexo 4

### **The Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a new intermediated host for *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae)**

A codorna japonesa (*Coturnix japonica*) como um novo hospedeiro para *Cystoisospora felis*  
(Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae)

Janaina da Soledad Rodrigues<sup>1</sup>, Gisele Santos de Meireles<sup>1</sup>; Walter Flausino<sup>2</sup>; Carlos Wilson  
Gomes Lopes\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. – bolsistas Capes e CNPq.

<sup>2</sup> Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. –bolsista CNPq

Received on .....

Accepted on .....

## Resumo

---

*Cystoisospora felis* é um parasito intracelular obrigatório que acomete felídeos de diversas espécies, que podem se contaminar tanto pela ingestão de oocistos esporulados, quanto pela ingestão de tecidos de hospedeiros intermediários infectados previamente com oocistos esporulados. Neste estudo, 10 codornas japonesas foram infectadas com um inoculo puro de oocistos de *C. felis* na concentração de  $10^6$ , e após 60 dias, baço, fígado e bursa dessas codornas infectadas foram oferecidos a três filhotes de gato livres de infecção. Um quarto gato ainda foi infectado com uma suspensão de  $10^6$  oocistos viáveis de *C. felis* por via oral. Após o início da eliminação, os oocistos foram colocados para esporular e, em seguida, 40

oocistos oriundos de cada infecção foram mensurados, tendo como médias de diâmetro maior (DM), diâmetro menor (dm) e índice morfométrico os seguintes valores: 44,30±2,30, 31,30±1,90 e 1,40±0,1 para os oriundos do animal infectado com fígado, 46,30±2,20, 32,90±1,90 e 1,40±0,1 para os oocistos do animal infectado com baço, 44,80±2,20, 31,20±1,60 e 1,40±0,1 para os oocistos oriundos do animal infectado com bursa e 43,60±1,60, 30,80±1,60 e 1,40±0,1 para os oocistos do animal que recebeu oocistos direto por via oral. Com estes resultados foi possível concluir que não existem diferenças significativas na morfometria dos oocistos de *C. felis*. Além disso, os períodos pré-patente e patente foram semelhantes quando gatos foram alimentados com vísceras de codornas infectadas previamente com oocistos esporulados de *C. felis* em comparação com o animal que recebeu 10<sup>6</sup> oocistos esporulados por via oral.

**Palavras-chave:** *Cystoisospora felis*, codorna japonesa, infecção experimental.

## Abstract

---

*Cystoisospora felis* is an obligator intracellular parasite that infecting felines of diverse species, that were contaminated by ingesting sporulated oocysts end/or intermediated host harboring monozoic cysts of this species. In this study, 10 Japanese quails were infected with a pure inoculum consisted by 10<sup>6</sup> sporulated oocysts of *C. felis*, after 60 days post infection, liver, spleen, and bursa of Fabricius were removed from each quail and they were given to feed to 3 kittens separately. A forth kitten was infected with 10<sup>6</sup> sporulated oocysts orally. After shedding oocysts by kittens, they were allowed to sporulate. After that, 40 sporulated oocysts of each infection were measured, having as means of Length, Width and Shape Index the following values: 44.30±2.30, 31.30±1.90 and 1.40±0.1 from kitten fed on liver, 46.30±2.20, 32.90±1.90 and 1.40±0.1 from kitten fed on spleen, 44.80±2.20, 31.20±1.60 and 1.40±0.1 from kitten fed on bursa of Fabricius, and 43.60±1.60, 30.80±1.60 and 1.40±0.1 from kitten infected with sporulated oocysts orally as well as *C. felis* prepatent and patent periods.

**Keywords:** *Cystoisospora felis*, Japanese quail, experimental infection.

---

\* Autor for correspondence: Carlos Wilson G. Lopes. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR – 465 km 7. CEP 23890-000 Seropédica – RJ, Brasil, e-mail: [lopeswlg@ufrj.br](mailto:lopeswlg@ufrj.br)

## **Introduction**

*Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977, an obligatory intracellular parasite belongs to the Sarcocystidae family, Cystoisosporinae subfamily, is one of the coccidium more frequently found in the feces of domestic cats (AMARAL et al., 1966). The oocysts of this species easily identified due to its oocysts great size when compared with other coccidia observed in feline feces (FRENKEL; DUBEY, 1972).

Dubey and Frenkel (1972) had identified two possible forms of infection of Felines for *Cystoisospora*, being the first one for the ingestion of sporulated oocysts and a second for the ingestion of an intermediate host infected previously with sporulated oocysts.

Some animals were described as intermediate hosts of species of the genus *Cystoisospora*, such as: mice, rats, dogs (FRENKEL; DUBEY, 1972), guinea pig (HERZOG et al., 1993), birds (LINDSAY; BLAGBURN, 1994), bovines (FAYER; FRENKEL, 1979), swine (CARVALHO FILHO et al., 2003), rabbits (COSTA; LOPES, 1998), Mongolian's gerbis (CARVALHO FILHO et al., 2004) and chickens (MASSAD et al., 2003).

The systemic distribution of hipnozoytes in different intermediate hosts visceras was indicated an accentuate tropism for mesenteric lymph nodes, spleen, liver and Payers' patches in mammals (FRENKEL; DUBEY, 1972; BRÖSIGKE et al., 1982; FREIRE; LOPES, 1996; COSTA; LOPES, 1997).

The objectives of the present study were to determine the experimental infection due to *C. felis* on Japanese quails and its experimental transmission to kittens free of coccidia

## **Material and Methods**

The experiment was carried out at the Laboratório de Coccidios e Coccidioses (LCC) – Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

A good-looking queen, in thirty final of gestation was brought for the LCC and it was lodged in individual bay with water and food *ad libitum*. Fecal examination was carried to

determine if the queen was free of infection for gastrointestinal parasites. Although the negative examination, a preventive treatment was adopted as indicating by Loss and Lopes (1997).

After 45 days of parturition, kittens were separated from its mother, fecal examination from all of them were done for a period of 30 days before being infected for evidence of they were free of infection. After that they were separated in suspended individual cages, previously washed with sodium hypochlorite and fire broom to prevent possible contaminations. For the direct infection, a pure suspension of *C. felis* sporulated oocysts (Figure 1) in Hank' solution (ANDRADE, 2000) in the concentration of  $10^6$  oocysts/mL was used, gotten from the purification of fecal samples from cats infected naturally. For the experimental viscera's infection, 10 Japanese quails were inoculated by using a orogastric tube, with  $10^6$  *C. felis* sporulated oocysts, and after 60 days of the infection, Japanese quails were euthanized (COBEA, 2007) and their livers, spleens and bursas of Fabricius were separated.

Of a total of 4 cats, each one of the cats received orally a distinct source of infection, divided as followed: cat I – grinded spleen; cat II – grinded liver; cat III – grinded bursa of Fabricius and cat IV - suspension of  $10^6$  sporulated oocysts/mL;. From the following day to the inoculation, fecal samples were examined daily and carried out according to Figueiredo et al. (1984).

After the beginning of the elimination, fecal samples were diluted separately, bolted and stored in plastic vials, containing potassium dichromate 2.5% in the proportion ratio of 1:9 and under forced aeration due to a aquarium pump in ambient temperature for that the sporulation could occur.

The tax of sporulated oocysts was followed daily, where the oocysts were classified in sporulated and not sporulated, until the tax of sporulation exceeded 80%. After sporulation, became the analysis and morphologic characterization of the oocysts, where 50 sporulated oocysts from each source of infection were measured separately by using a micrometric ocular (K-15X PZO) in a binocular microscope Carl Zeiss, where the length and width of oocysts were determined, as well as the index shape. Pictures were taken using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®.

The measures of central tendency as well as the comparisons between sporulated oocysts means from different sources of infection were analyzed according to Sampaio (2002).

## **Results and Discussion**

For characterization of the oocysts as part of the studied species, a complete knowledge of the taxonomic aspects becomes necessary that, on this in case to be based on the morphologic characteristics of the oocysts (TENTER et al., 2002).

To if comparing the measures of the length, width and index shape of the oocysts recovered from different sources of infection (Table 1), significant differences between these values had not been observed, that's differs from the results observed by Medeiros et al. (2007), when oocysts of *C. felis* proceeding from experimental infection with mice viscera's for being bigger than those observed in this study. Although, the length and width means gotten from each source of infection, in the present study, they were similar to those observed by Medeiros et al. (2007). In the same way, values observed in the present study for oocysts were bigger than those observed when Mongolian gerbil viscera's were used as source of infection for *C. felis* (CARVALHO FILHO et al., 2004). However, in both cases, index shape of the oocysts was similar to those observed in the present results. Prepatent and patent periods were the same among viscera's infection in comparison to that due to sporulated oocysts infection (Table 2). Similar results were also observed by Dubey e Streitl (1976) and Carvalho Filho et al. (2004). Lindsay e Blagburn (1994) described a patent period from 10-11 days for *C. felis*, when cats free of coccidia were infected by  $10^4$  sporulated oocysts orally. When kittens fed on liver and spleen separately shed more oocysts than that fed on bursa of Fabricius, but less than kitten infected orally (Figure 2).

This disparity of values can be explained by diverse factors, such as the different use of parasite strains or intrinsic factors of the hosts (FAYER, 1980).

## References

- AMARAL, V.; AMARO, R.G.; BIRGEL, E.H. Ocorrência da *Isospora felis* Wenyon, 1923, em suçuarana (*Puma concolor*). **Revista da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária**, v. 4, n.1, p.25-28, 1966.
- ANDRADE, C.M. **Meios e Soluções comumente empregados em Laboratórios**. 1ª ed. Seropédica: EDUR, 2000. 353p.
- BRÖSIGKE, S.; HEINE, J.; BOCH, J. Der nachwels extraintestinalen Entwicklungstadien (Dormozoitien) in experimentall mit *Cystoisospora rivolta* oozysten infierten Mause. **Klientier Praxis**, v. 27, n.1, p. 25-34, 1982.
- CARVALHO FILHO, P.R. de; 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.
- CARVALHO FILHO, P.R. de; MASSAD, F.V.; BEZERRA, M.M.; OLIVEIRA, F.C.R. de; LOPES, C.W.G. *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.
- COSTA, P.S.; LOPES, C.W.G. Hipinozoítas de *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 1, n.1, p. 35-36, 1997.
- COSTA, P.S. DA; LOPES, C.W.G. Avaliação do parasitismo de hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em coelhos tipo carne. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n.1, p. 15-19, 1998.
- COBEA, Legislação & ética. Disponível on: < <http://www.cobea.org.br/ética.htm>>. Access on: Mar 14, 2007.
- 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. Epidemiology of protozoan infections: the coccidian. **Veterinary Parasitology**, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.
- FAYER, R.; FRENKEL, J.K. Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidian: *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 hipinozoítas 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.

HERZOG, J.D.; FLAUSINO, W.; FREIRE, R.B. Hipinozoítas de *Cystoisospora felis* em cobaios. In: **SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, 7. 1993. *Anais ...* Londrina: CBPV, 1993. p. 09.

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 pirimetropina 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.

MASSAD, F.V.; OLIVEIRA, F.C.R.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G. Hipinozoítas de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em frangos. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 10, n.1, p. 57-58, 2002.

MEDEIROS, S.M. DE; LOSS, Z.G.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Pleomorfismo de oocistos de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) induzido por diferentes fontes de infecção. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 14, n.3, p. 163-166, 2007.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2ª Ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002. 265 p.

TENTER, A.M.; BARTA, J.R.; BEVERIDGE, I.; DUSZYNSKI, D.W.; MEHLHORN, H.; MORRISON, D.A.; THOMPSON, A.R.C.; CONRAD, P.A. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n.5, p. 595-616, 2002.



**Table 1.** *Cystoisospora felis* sporulated oocysts from different source of infection.

Source of infection	Samples	Oocysts*		
		Length	Width	Shape index
Liver	50	44,30±2,30	31,30±1,90	1,40±0,1
Spleen	50	46,30±2,20	32,90±1,90	1,40±0,1
Bursa of Fabricius	50	44,80±2,20	31,20±1,60	1,40±0,1
Sporulated oocysts	50	43,60±1,60	30,80±1,60	1,40±0,1

\* No significant differences were observed.

**Table 2.** Shedding *Cystoisospora felis* oocysts by cats infected with different sources of infection.

Origin of infecting material	Source of infection	Period		Number of oocysts	
		Pre-patent	Patent	OoPG <sup>c</sup>	Total
Japanese quail <sup>a</sup>	Spleen	5	12	3,450	57,740
	Liver	5	12	4,880	216,522
	Bursa of Fabricius	5	12	445	19,924
Sporulated oocysts <sup>b</sup>	Fecal oocysts	7	14	31,274	1,565,948

<sup>a</sup>Animals infected with 10<sup>6</sup> sporulated oocysts previously.

<sup>b</sup>Kittens infected with 10<sup>6</sup> sporulated oocysts orally.

<sup>c</sup>Oocysts per gram of feces

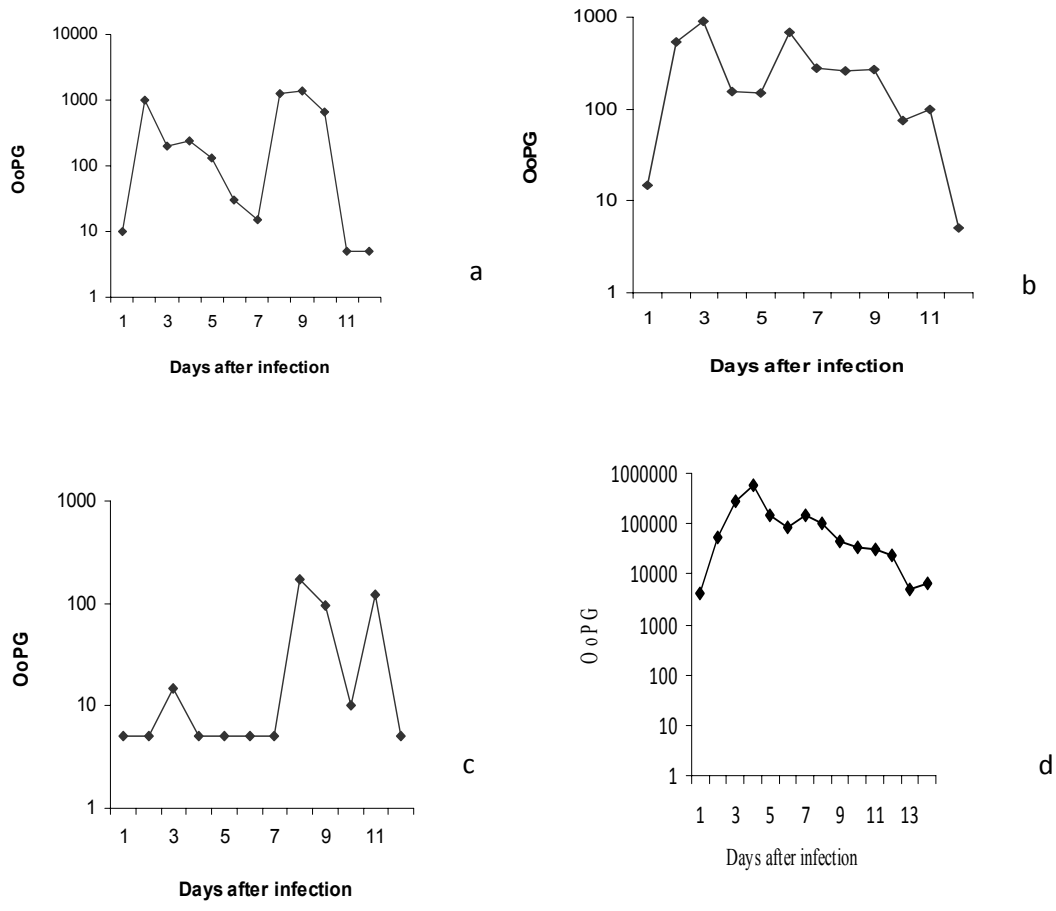


Figure 2. Shedding *Cystoisospora felis* oocysts by cats fed on liver (a), spleen (b), bursa of Fabricius (c) of the Japanese quail and infected with  $10^6$  sporulated oocysts orally (d)



**Figure 1.** *Cystoisospora felis* sporulated oocyst. Sugar saturated solution. 1000X.