

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE FRANGOS DOMÉSTICOS (*Gallus gallus*) COM CEPAS GENETICAMENTE DISTINTAS DE *Toxoplasma gondii*<sup>1</sup>**

Susiana Galli<sup>2</sup>  
Fernando César Belinato<sup>3</sup>  
Thays Mizuki Lucas<sup>4</sup>  
Rodrigo Costa da Silva<sup>5</sup>  
Helio Langoni<sup>5</sup>  
Aristeu Vieira da Silva<sup>6</sup>

**RESUMO**

A infecção pelo *Toxoplasma gondii* constitui uma das zoonoses mais difundidas no mundo, sendo provavelmente o protozoário mais freqüente nas populações humana e animal, incluindo as aves. O comportamento clínico e patológico da toxoplasmose em aves não foi totalmente elucidado, assim, este estudo experimental visou verificar as diferenças dos padrões clínicos e patológicos da toxoplasmose em aves inoculadas com diferentes cepas de *T. gondii*. Grupos de seis frangos Cobb de 36 dias de idade foram inoculados pela via oral com 100 cistos teciduais da cepa ME49 (genótipo II), 1000 oocistos da cepa M7741 (genótipo III) ou não foram inoculados, constituindo os grupos G2, G3 e G1, respectivamente. As aves foram avaliadas diariamente quanto ao desenvolvimento de sinais clínicos, tendo a temperatura cloacal verificada diariamente na primeira semana. Foram pesadas semanalmente até os 63 dias pós-infecção (DPI), com coletas também semanais de sangue para determinação de anticorpos anti-*Toxoplasma* pelo método de aglutinação direta (MAD). Aos 63 dias após a infecção, sofreram eutanásia por deslocamento crânio-cervical. Os frangos G2 apresentaram alterações neurológicas no decorrer do experimento. O sinal mais freqüente da infecção pelo *Toxoplasma* foi a diarreia, principalmente no grupo que recebeu oocistos; no grupo que recebeu cistos teciduais houve sinais neurológicos em duas aves. O peso das aves foi crescente em todos os grupos até o fim do experimento, sem diferença significativa entre eles. O ganho de peso semanal foi da ordem de 300 a 500 gramas nas primeiras cinco semanas de observação. Anticorpos séricos em títulos crescentes foram detectados nas aves G2 e G3 a partir de 14 DPI, sendo que a partir dos 28 DPI o título médio do G3 foi significativamente maior que do G2. Nos dois grupos o pico de anticorpos se deu aos 35 DPI, com queda de titulação até os 63 DPI. Em G2, o parasito foi reisolado do *pool* de cérebro e coração de cada um dos seis frangos infectados, enquanto que em G3 o reisolamento se deu de quatro aves.

**Palavras-chave:** toxoplasmose; *Gallus gallus*; infecção experimental, sorologia.

**EXPERIMENTAL INFECTION OF DOMESTIC CHICKENS (*Gallus gallus*) WITH GENETICALLY DISTINCT STRAINS OF *Toxoplasma gondii*****ABSTRACT**

Infection by *Toxoplasma gondii* is one of the most widespread zoonoses in the world, and the microorganism is probably the most frequent protozoa affecting human and animal populations, including birds. Due to the fact that toxoplasmosis clinical and pathological behavior in birds has not

<sup>1</sup>Trabalho financiado pela Universidade Paranaense – UNIPAR

<sup>2</sup>Bióloga, Mestrado em Ciência Animal, UNIPAR, bolsista da Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná. [susianag@universia.com.br](mailto:susianag@universia.com.br)

<sup>3</sup>Curso de Graduação em Medicina Veterinária, UNIPAR, bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq/UNIPAR. [fernandobelinato@hotmail.com](mailto:fernandobelinato@hotmail.com)

<sup>4</sup>Curso de Graduação em Medicina Veterinária, UNIPAR, bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, PIBIC / UNIPAR. [thaysmizuki@yahoo.com.br](mailto:thaysmizuki@yahoo.com.br)

<sup>5</sup>Núcleo de Pesquisa em Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu, SP. [silva\\_rcd@yahoo.com.br](mailto:silva_rcd@yahoo.com.br); [hlangoni@fmvz.unesp.br](mailto:hlangoni@fmvz.unesp.br)

<sup>6</sup>Professor Doutor, Mestrado em Ciência Animal, UNIPAR. [aristeu@unipar.br](mailto:aristeu@unipar.br)

been fully elucidated, the aim of this experimental study was to assess the variation in clinical and pathological toxoplasmosis pattern in birds inoculated with different strains of *T. gondii*. Six groups of 36 days old Cobb hens were divided as follows: G2, submitted to oral inoculation with 100 tissue cysts of strain ME49 (genotype II); G3, submitted to oral inoculation with 1,000 oocysts of M7741 strain (genotype III) and G1, the uninoculated control. Animals were evaluated daily for the development of clinical signs. Cloacal temperature was checked daily in the first week. Animals were weighed weekly up to 63 days post-infection (dpi) and blood samples were also drawn weekly for the determination of anti-*Toxoplasma* antibodies using of the modified agglutination test (MAT). At 63 days after infection, birds were killed by cervical displacement. Two G2 hens showed neurological changes in the course of the experiment. The most frequent sign of *Toxoplasma* infection was diarrhea, mainly in the group that received oocysts (G3). The weight of the birds increased in all groups until the end of the experiment, with no significant differences between the groups. Weekly weight gain was around 300 to 500 grams in the first five weeks of observation. Although there were no significant differences between the groups from the sixth week on, G2 and G3 birds had the smallest weight gains, and G3 birds even lost body mass. Serum antibodies titers increased in G2 and G3 birds from the 14 dpi on. From the 28 dpi on, mean G3 titer was significantly greater than that of G2. Both groups showed a peak in antibodies at 35 dpi, with a continuous decrease until 63 dpi. In G2, parasites were isolated from pooled brains and hearts of all six birds. *Toxoplasma* was also isolated from four G3 birds.

**Key words:** toxoplasmosis, *Gallus gallus*, experimental infection, serology.

### INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE GALLINAS DOMÉSTICAS (*Gallus gallus*) CON CEPAS GENÉTICAMENTE DISTINTAS DE *Toxoplasma gondii*

#### RESUMO

La infección por el *Toxoplasma gondii* se constituye en una de las zoonosis más difundidas del mundo, siendo probablemente el protozooario más frecuente en las poblaciones humana o animales, incluyendo las aves. El comportamiento clínico y patológico de la toxoplasmosis en aves no fue totalmente elucidado, así, este estudio experimental tuvo como objetivo verificar las diferencias de los estándares clínicos y patológicos de la toxoplasmosis en aves inoculadas con diferentes cepas de *T. gondii*. Grupos de seis gallinas Cobb de 36 días de edad fueron inoculadas por vía oral con 100 quistes tejiduales de la cepa ME49 (genotipo II), 1000 ooquistes de la cepa M7741 (genotipo III) o no fueron inoculadas, constituyendo los grupos G2, G3 y G1, respectivamente. Fueron evaluadas diariamente cuanto al desarrollo de señales clínicas, teniendo la temperatura de cloaca verificada diariamente en la primera semana. Fueron pesadas semanalmente hasta los 63 días pos-infección (DPI), con coletas semanales de sangre para determinación de anticuerpos anti-*Toxoplasma* por el método de aglutinación directa (MAD). A los 63 días pos-infección, sufrieron eutanasia por desplazamiento craneo-cervical. Las gallinas G2 presentaron alteraciones neurológicas en el decorrer del experimento. La señal más frecuente de la infección por el *Toxoplasma* fue la diarrea, principalmente en el grupo que recibió ooquistes; en el grupo que recibió quistes tejiduales hubo señales neurológicas en dos aves. El peso de las aves fue elevando en todos los grupos hasta el fin del experimento, sin diferencia significativa entre ellos. El gaño de peso semanal fue de de 300 a 500 gramos en las primeras cinco semanas de observación. A pesar de no haber registrado diferencia significativa entre los grupos, a partir de la sexta semana, las aves de G2 y G3 presentaron los menores gaño de peso, siendo que en G3 hubo, incluso, pérdida de masa corporal. Anticuerpos séricos en títulos crecientes fueron detectados en las aves G2 y G3 a partir de 14 DPI, siendo que a partir de los 28 DPI el título medio del G3 fue significativamente mayor que del G2. En los dos grupos el pico de anticuerpos se dio a los 35 DPI, con queda de titulación hasta los 63 DPI. En G2, el parásito fue aislado del *pool* de cerebro y corazón de las seis gallinas infectadas, mientras que en G3 el aislamiento se dio en cuatro aves.

**Palabras-clave:** toxoplasmosis, *Gallus gallus*, infección experimental, serología.

## INTRODUÇÃO

A infecção pelo *Toxoplasma gondii* constitui uma das zoonoses mais difundidas no mundo, afetando as populações humanas e animais, incluindo as aves (TENTER et al., 2000).

Entre as fontes possíveis de infecção para o ser humano, as aves domésticas, notadamente as galinhas (*Gallus gallus*), principalmente as criadas de forma extensiva, vem sendo estudadas em várias regiões do mundo, por serem ótimos indicadores da contaminação ambiental, devido aos seus hábitos alimentares (DUBEY et al., 2006).

A forma mais comum de demonstração da infecção deste animais é a determinação de anticorpos séricos, e no Brasil, como em outros países, tem-se verificado a prevalência da infecção de galinhas pelo *T. gondii*. Garcia et al. (2000) apontam uma prevalência de 10,3% entre as 155 amostras examinadas de soros de galinhas do município de Jaguapitã, PR, pela reação de imunofluorescência indireta, considerando como ponto de corte o título 16. No estado do Paraná, Dubey et al. (2003), estudando aves da região de Santa Izabel do Ivaí, encontraram 16 de 40 (40%) das aves examinadas positivas ao método de aglutinação direta, considerando como ponto de corte a diluição 1:5; as mesmas amostras, quando examinadas pela imunofluorescência indireta (RIFI) a partir da diluição 1:16 (RUFFOLO et al., 2005), resultaram numa frequência de 53,49% de positivos, indicando uma sensibilidade maior para a RIFI.

Os trabalhos de infecção experimental, por outro lado, são importantes na determinação da infecção e da evolução clínica do parasitismo.

Biancifiori et al. (1986) infectaram galinhas poedeiras com 5.000 e 50.000 oocistos de *T. gondii* e seus ovos foram coletados e incubados, para checar a fertilidade e mortalidade dos embriões. Os autores observaram queda na produção de ovos juntamente com alta mortalidade embrionária no experimento em que as aves foram inoculadas com 50.000 oocistos. O parasito não foi reisolado dos ovos. Nas aves abatidas até duas semanas após a infecção o parasito foi reisolado de cérebro, coração, fígado, baço e pulmões, e às seis semanas o reisolamento teve sucesso apenas em cérebro e coração.

Visando comparar a performance de diferentes testes sorológicos para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em galinhas, Dubey et al. (1993) inocularam galinhas da raça White Leghorn com 1000 ou 100000 oocistos das cepas GT-1 (tipo I) ou ME49 (tipo II), pela via oral. Além de verificar que os melhores testes para detecção de anticorpos foram o ensaio imunoenzimático e o teste de aglutinação direta, não obtendo resultado com os testes de aglutinação ao látex e hemaglutinação, os pesquisadores reisolaram o parasito principalmente do cérebro, seguido do coração e dos músculos da perna, mas não do fígado ou dos músculos peitorais. Nenhuma das aves desenvolveu sinais de toxoplasmose clínica.

No Brasil, Kaneto et al. (1997) infectaram um total de 84 aves de uma linhagem de poedeiras de 30 dias de idade com taquizoítos, cistos ou oocistos da cepa P de *T. gondii*, de virulência moderada para camundongos, seja pela via oral seja pela via intravenosa. Nenhuma alteração clínica ou produtiva significativa foi encontrada, mas as aves que receberam taquizoítos ou oocistos apresentaram hipertermia. Das aves inoculadas, em 14 foi detectada a parasitemia a partir do quinto dia de infecção. Trinta a trinta e cinco dias após a infecção, as aves foram abatidas e o parasito reisolado mais frequentemente do cérebro, pâncreas, baço, retina, rim, coração, moela, fígado, intestino, pulmão e músculos esqueléticos.

O estudo da literatura referente à inoculação experimental permite verificar que a idade de infecção das aves, a cepa e o estágio parasitário inoculado, bem como a via de inoculação, são importantes na determinação da ocorrência de alterações clínicas nas aves, bem como no reisolamento do parasito dos tecidos.

O presente trabalho objetivou verificar as diferenças de padrões clínicos e o comportamento de aglutininas séricas em frangos domésticos inoculadas com duas cepas de *T. gondii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Delineamento experimental

Em um experimento inteiramente aleatorizado, 18 aves foram divididas em três grupos, sendo dois experimentais infectados com cistos teciduais ou oocistos de *T. gondii*, e um controle não infectado. As aves foram observadas diariamente, com verificação na primeira semana da temperatura cloacal, e semanalmente, do peso, características clínicas e coleta de sangue para verificação da produção de anticorpos anti-*T. gondii*.

### Animais

Foram utilizados 18 frangos de corte (*Gallus gallus*) da linhagem Cobb, que ao início do experimento completavam 36 dias de idade, e passaram anteriormente por período de adaptação de dez dias tendo sido adquiridos de um criatório comercial no município de Umuarama – PR.

As aves foram divididas em três grupos de seis, mantidas em gaiolas apropriadas para aves poedeiras, no aviário do Hospital Veterinário da Universidade Paranaense – UNIPAR, Campus II Cruzeiro, Umuarama, PR, por período de 63 dias. Foram ainda separadas, pesadas, identificadas com anilha e tratadas com ração comercial e água, fornecidos *ad libitum*.

Antes da inoculação das aves, as mesmas tiveram o sangue coletado e verificada a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. A negatividade a este teste foi o critério de inclusão das aves no estudo.

### Cepas de *Toxoplasma gondii*

Foram utilizadas duas cepas de *T. gondii*: ME49, em estágio de bradizoítos em cistos teciduais, e M7741, em estágio de oocisto esporulado, classificadas pela análise do gene SAG-2 como pertencentes ao genótipo II e III, respectivamente (Da SILVA et al., 2005). Os cistos teciduais da cepa ME49 foram obtidos a partir de macerado de cérebros de camundongos previamente inoculados com cistos teciduais pela via oral, de manutenção constante no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública da Universidade Paranaense – UNIPAR, Campus Umuarama, segundo o protocolo de Dubey e Beattie (1988). Os oocistos da cepa M7741 de *T. gondii* foram obtidos pela inoculação de gatos com cistos teciduais do parasito, obtidos em camundongos como descrito por Dubey e Beattie (1988).

### Infecção experimental

O grupo um (G1) foi mantido como controle, sem inoculação, sendo, entretanto, submetido a todos os outros procedimentos de coleta de dados e amostras. As aves do grupo dois (G2) receberam pela via oral 1,0 mL de suspensão contendo 100 cistos teciduais da cepa ME49. As aves do grupo três (G3) receberam pela via oral 1,0 mL de suspensão contendo 1.000 oocistos da cepa M7741. O dia da inoculação foi considerado o dia zero (D0) do experimento.

### Observação dos animais, coleta de dados e amostras

As aves foram observadas duas vezes ao dia durante a primeira semana pós-inoculação, com mensuração diária da temperatura cloacal. Após a primeira semana seguiram-se observações diárias sendo anotados os sinais de alterações comportamentais e clínicas dos animais, e semanalmente, o peso das aves e coleta de sangue da veia cefálica. O soro foi obtido por centrifugação das amostras de sangue e congelado a -20°C para posterior exame sorológico.

Após período de observação de 63 dias as aves foram submetidas à eutanásia pelo deslocamento crânio-cervical. Amostras de cérebro e coração, para cada um dos frangos, foram maceradas em conjunto, constituindo um *pool* que foi submetido à digestão em solução ácida de

pepsina e inoculação em quatro camundongos, pela via subcutânea, para isolamento de *T. gondii* (DUBEY, 1998).

### Exame sorológico

Para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* foi utilizado o método de aglutinação direta (MAD), usando antígenos fixados em formalina (DA SILVA et al., 2002). Diluições seriadas do soro na razão dois, a partir de 1:10 até 1:20480 foram utilizadas para determinação do título de anticorpos nas amostras.

### Análise dos dados

Os dados de temperatura cloacal, peso e ganho de peso foram avaliados entre os grupos pela análise de variância para experimento inteiramente aleatorizado (ANOVA-EIA), seguido de contraste de médias pelo teste de Tukey. A titulação de anticorpos séricos também foi comparada pela ANOVA-EIA, após transformação logarítmica dos dados. A taxa de reisolamento foi comparada entre os grupos pelo teste do Exato de Fischer. Em todas as análises foi considerado um nível de significância de 5% (TRIOLA, 2005).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Temperatura cloacal

A temperatura cloacal das aves foi verificada diariamente até o oitavo dia após a inoculação. A variação nos resultados, como demonstrada na Tabela 1, não pôde ser conclusivamente atribuída à inoculação das aves com *T. gondii*. Kaneto et al. (1997) encontraram aumento de temperatura cloacal em aves inoculadas com taquizoítos, e naquelas inoculadas com 5.000 ou 50.000 oocistos, não registrando diferenças nos grupos inoculados com cistos teciduais.

### Alterações clínicas

As aves inoculadas apresentaram, durante a primeira semana pós inoculação, diarreia, que foi mais intensa nas aves inoculadas com oocistos da cepa M7741 (G3). Este sinal foi notado principalmente durante a verificação da temperatura cloacal, e diminuiu com o passar dos dias. A partir dos 35 DPI, duas aves de G2 passaram a apresentar sinais neurológicos, representados por dificuldade de manter a estação e por manter a cabeça constantemente abaixada. Não foi verificada mortalidade em nenhum dos grupos infectados.

Dubey et al. (1993), inoculando aves com peso entre 379 e 476g, não encontraram aves com sinais clínicos da infecção, apesar de usarem oocistos como estágio infectante, sendo parte das aves inoculadas com a cepa ME49 (genótipo II), tida como avirulenta para camundongos, e outras aves inoculadas com a cepa GT1 (genótipo I), tida como altamente virulenta para camundongos.

Kaneto et al. (1997) não relataram sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose em aves de 30 dias de idade, inoculadas com taquizoítos, cistos teciduais ou oocistos de diferentes cepas de *T. gondii*. Já Ruiz et al. (2005), ao inocularem pintainhos de cinco dias de idade com 10, 1.000 ou 100.000 oocistos de uma cepa de *T. gondii*, verificaram mortalidade em todos os grupos, aos 25, 15 e dez dias pós-infecção, respectivamente, e relataram diarreia severa, debilidade, anorexia e perda de peso. Nas aves que sobreviveram foi registrada diarreia até 15 dias após a inoculação. Portanto, a idade dos animais é um fator importante na gravidade dos sinais clínicos e na taxa de sobrevivência, já relatado em aves no trabalho de Kulasiri et al. (1965), que ao inocularem frangos com dez cistos de uma cepa de *T. gondii*, encontraram taxas de mortalidade de 50%, 16,67% e 0%, em aves com uma, duas ou mais de três semanas de idade, respectivamente.

Sinais neurológicos e lesões no tecido cerebral foram registrados em aves inoculadas com taquizoítos de *T. gondii* pela via intracerebral (HARBOE e ERICHSEN, 1954). A inoculação de taquizoítos por esta via tende a gerar encefalite aguda nos animais, e apesar deste trabalho usar

estágios infectantes e via de inoculação diferente, há paralelo nos resultados de trabalhos que demonstram que camundongos cronicamente infectados com *T. gondii* de cepas normalmente tidas como avirulentas para o modelo murino, desenvolvem alterações crônicas que levam à debilidade, alterações neurológicas e ao óbito (HUNTER e REMINGTON, 1994). Este encontro, mesmo que em apenas duas das seis aves inoculadas do Grupo 2, é importante, pois o desenvolvimento de sinais neurológicos em um hospedeiro normalmente resistente ao parasito tem paralelos com alterações semelhantes encontradas em outras espécies, tais como o cão e o homem (DE BRITO et al., 2002). É importante frisar que até o momento não foram detectadas cepas tipo II em galinhas no Brasil, entretanto, devido ao potencial cistogênico das cepas deste genótipo, e então sua capacidade em induzir encefalite toxoplásmica, a cepa ME49 foi utilizada para comparação com a cepa tipo III neste estudo.

### Peso e ganho de peso

Os três grupos apresentaram peso progressivamente mais elevado durante todo o período experimental, não sendo registrada diferença significativa entre os grupos. O ganho de peso manteve-se relativamente constante, da ordem de 300 a 500 gramas até os 35 DPI, quando passou a diminuir progressivamente, principalmente nos grupos infectados, entretanto, sem diferenças significativas entre os grupos.

### Detecção de anticorpos séricos

Anticorpos séricos anti-*T. gondii* foram detectados pelo MAD em todas as aves dos grupos inoculados a partir de 14 DPI. Os títulos iniciais variaram de 10 (duas aves em cada um dos grupos) até 80 (uma ave em G2 e duas em G3). Até os 21 DPI os títulos médios de anticorpos foram semelhantes em G2 e G3, mas a partir de 28 DPI os títulos de G3 foram sempre significativamente mais elevados que em G2. O pico de anticorpos séricos foi detectado aos 35 DPI em ambos os grupos, e a partir de então houve diminuição progressiva dos títulos. O maior título de anticorpos registrado em G2 foi 640, em duas aves aos 35 DPI, e 1280 em G3, mas em momentos diferentes (uma ave aos 28 DPI, uma aos 35 DPI e uma aos 42 DPI). Em G1 não foram detectados anticorpos em nenhum momento, demonstrando a especificidade do teste. A Tabela 2 apresenta os resultados da titulação de anticorpos em G2 e G3 a partir dos 14 DPI.

Como outros animais, as aves experimentalmente infectadas produzem altos títulos de anticorpos anti-*T. gondii*. Os resultados do presente trabalho, para a cepa ME49, foram similares aos encontrados por Dubey et al. (1993): as aves soroconverteram a partir dos 14 DPI, com pico de anticorpos aos 27 DPI na maioria das aves. Neste trabalho o pico de anticorpos foi detectado aos 35 DPI. Dubey et al. (1993), entretanto, não encontraram diferenças significativas entre os títulos de anticorpos quando comparadas as cepas ME49 e GT1, utilizadas para a infecção das aves. Apesar de termos encontrado diferenças entre os grupos a partir dos 28 DPI, estes resultados não podem ser comparados diretamente, uma vez que estágios diferentes de *T. gondii* eliciam diferentes respostas, normalmente mais intensas quando se utilizam oocistos do parasito.

### Reisolamento

Em G2, o parasito foi reisolado do *pool* de cérebro e coração de cada um dos seis frangos infectados, sendo que, dos 24 camundongos inoculados, 14/24 (58,3%) soroconverteram, e em 5/14 (35,7%) foram encontrados cistos teciduais. Das seis aves infectadas em G3, em quatro o parasito foi reisolado, com 7/24 (29,2%) dos camundongos soropositivos e detecção de cistos teciduais em 5/7 (71,4%). Não houve diferenças significativas na taxa de isolamento entre os grupos ( $p=0,45$ ).

Como relatado por Biancifiiori et al. (1986), em bioensaio com aves abatidas até duas semanas após a infecção, reisolaram o parasito de cérebro, coração, fígado, baço e pulmões das galinhas infectadas, e às seis semanas conseguiram reisolamento apenas em cérebro e coração. Dubey et al. (1993) reisolaram o parasito principalmente do cérebro, seguido do coração e dos músculos da perna. Kaneto et al. (1997) reisolaram mais frequentemente do cérebro, pâncreas, baço, retina, rim, coração, moela,

figado, intestino, pulmão e músculos esqueléticos. Estes estudos indicam que o *T. gondii* está distribuído irregularmente nos órgãos e que cérebro e coração são os órgãos mais afetados pelo parasito nas galinhas.

**TABELA 2.** Média  $\pm$  desvio-padrão da temperatura cloacal ( $^{\circ}$ C) de aves controle (G1), inoculadas com cistos teciduais da cepa ME49 (G2) ou com oocistos da cepa M7741 (G3) de *Toxoplasma gondii*. Umuarama, PR. 2007.

**TABLE 1.** Average  $\pm$  standard deviation of cloacal temperature ( $^{\circ}$ C) of control (G1), ME49 strain tissue cysts (G2) or M7741 strain oocystis (G3) of *Toxoplasma gondii* inoculated birds. Umuarama, PR. 2007.

Dias após a inoculação	Média $\pm$ desvio-padrão da temperatura cloacal ( $^{\circ}$ C)		
	G1	G2	G3
0	42,67b $\pm$ 0,26	42,18ab $\pm$ 0,13	41,88a $\pm$ 0,04
1	41,40a $\pm$ 0,05	41,60a $\pm$ 0,12	41,45a $\pm$ 0,06
2	41,05a $\pm$ 0,04	41,30a $\pm$ 0,09	41,28a $\pm$ 0,11
3	41,03a $\pm$ 0,09	40,95a $\pm$ 0,10	41,10a $\pm$ 0,07
4	41,27a $\pm$ 0,04	41,60ab $\pm$ 0,12	41,70b $\pm$ 0,12
5	40,97a $\pm$ 0,07	40,97a $\pm$ 0,06	40,95a $\pm$ 0,06
6	41,15a $\pm$ 0,07	40,98a $\pm$ 0,17	41,43a $\pm$ 0,18
7	41,22a $\pm$ 0,06	41,62b $\pm$ 0,14	41,40ab $\pm$ 0,06
8	41,57a $\pm$ 0,06	41,67a $\pm$ 0,13	41,53a $\pm$ 0,07

Estatística: médias seguidas de letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pela análise de variância, para um  $\alpha=0,05$ .

**TABELA 2.** Média  $\pm$  desvio-padrão do log dos títulos de anticorpos séricos de aves inoculadas com cistos teciduais da cepa ME49 (G2) ou com oocistos da cepa M7741 (G3) de *Toxoplasma gondii*. Umuarama, PR. 2007.

**TABLE 2.** Average  $\pm$  standard deviation serum antibody titers (log) of ME49 strain tissue cysts (G2) or M7741 strain oocystis (G3) of *Toxoplasma gondii* inoculated birds. Umuarama, PR. 2007.

Dias após a inoculação	Média $\pm$ desvio-padrão do log dos títulos de anticorpos séricos	
	G2	G3
14	1,47a $\pm$ 0,14	1,47a $\pm$ 0,16
21	2,01a $\pm$ 0,06	2,01a $\pm$ 0,06
28	2,36a $\pm$ 0,10	2,71b $\pm$ 0,10
35	2,46a $\pm$ 0,14	2,81b $\pm$ 0,08
42	2,26a $\pm$ 0,09	2,71b $\pm$ 0,10
49	1,91a $\pm$ 0,11	2,46b $\pm$ 0,09
56	1,71a $\pm$ 0,10	2,36b $\pm$ 0,07

Estatística: médias seguidas de letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pela análise de variância, para um  $\alpha=0,05$ .

## CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- As aves inoculadas apresentaram diarreia, mais intensa nas aves infectadas com oocistos.
- Houve o desenvolvimento de sinais neurológicos em aves infectadas com cepas genótipo II.
- Não houve diferença significativa no peso e no ganho de peso das aves.
- Todas as aves infectadas soroconverteram, com títulos crescentes de anticorpos até 35 dias após a infecção, e que perduraram até o final do experimento.
- Houve reisolamento do parasito do *pool* de cérebro e coração dos frangos, com formação de cistos teciduais tanto nas aves inoculadas com cepa genótipo II quanto com a cepa genótipo III.

Este trabalho foi submetido para apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA) da UNIVERSIDADE PARANAENSE em reunião realizada no dia 28/09/2006.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e à Fundação Araucária pela concessão de bolsas aos acadêmicos envolvidos, e à Universidade Paranaense pelo suporte financeiro ao desenvolvimento deste projeto.

## REFERÊNCIAS

- BIANCIFIORI, F. et al. Avian Toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.**, v.9, n.4, p.337-349, 1986.
- Da SILVA, A.V. et al. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arq. Inst. Biol.**, v.69, n.1, p.7-11, 2002.
- Da SILVA, A.V. et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. **Vet. Parasitol.**, v.127, n.1, p.23-27, 2005.
- DE BRITO, A.F. et al. Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.97, n.1, p.31-35, 2002.
- DUBEY, J.P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. **Vet. Parasitol.**, v.74, n.1, p. 75-77, 1998.
- DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton: CRC Press. 1988. 220p.
- DUBEY, J.P. et al. Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Am. J. Vet. Res.**, v.54, n.10, p.1668-1672, 1993.
- DUBEY, J.P. et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.117, n.3, p.229-234, 2003.
- DUBEY, J.P. et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. **J. Parasitol.**, v.92, n.1, p.36-40, 2006.

GARCIA, J.L. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in back yard chicken (*Gallus gallus domesticus*) from rural properties in North Region of Paraná State, Brazil. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.123-127, 2000.

HARBOE, A.; ERICHSEN, S. Toxoplasmosis in Chickens. 3. Attempts to provoke a systemic disease in chickens by infection with a chicken strain and human strain of *Toxoplasma*. **Acta Pathol. Microbiol. Scand.**, v.35, n.5, p.495-502, 1954.

HUNTER, C.A.; REMINGTON, J.S. Immunopathogenesis of toxoplasmic encephalitis. **J. Infect. Dis.**, v.170, n.5, p.1057-67, 1994.

KANETO, C.N. et al. Experimental toxoplasmosis in broiler chickens. **Vet. Parasitol.**, v.69, n.3-4, p.203-210, 1997.

KULASIRI, C. de S. et al. Infection of the chicken with avirulent *Toxoplasma gondii*. **Exp. Parasitol.**, v.17, n.1, p.65-68, 1965.

RUFFOLO, B.B. et al. *Toxoplasma gondii* em galinhas de criação doméstica do município de Santa Isabel do Ivaí – PR, Brasil. In: I SIMPÓSIO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA, 16., 2005, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, 2005. Disponível em <http://www.vps.fmvz.usp.br/simposio/>

RUIZ , A.I. et al. Patología en pollos inoculados oralmente con diferentes concentraciones de ooquistes de *Toxoplasma gondii*. **Parasitol. Latinoam.** v.60, n.1-2, p.43-47, 2005.

TENTER, A.M. et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.**, v.30, n.12-13, p.1217-51, 2000.

TRIOLA, M.F. **Introdução à estatística**. Rio de Janeiro: LTC. 2005. 656p.

**Recebido em: 05/12/2007**

**Aceito em: 23/06/2008**