

Análise morfométrica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*

Morphometric analysis of the intestinal wall and the dynamic of mucins secreted in the chicken ileum infected with *Toxoplasma gondii*

Celina Sayuri Shiraishi¹ Jorge Fernandes de Azevedo¹ Aristeu Vieira da Silva^{II}
Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana¹ Eduardo José de Almeida Araújo^{*}

RESUMO

Objetivou-se analisar os efeitos da toxoplasmose sobre a morfometria da parede intestinal e a dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos. Foram utilizados 16 frangos de corte machos (*Gallus gallus*) da linhagem Cobb, com 26 dias de idade. As aves foram divididas aleatoriamente em três grupos (G1, G2 e G3). O G1 não recebeu nenhum inóculo caracterizando o grupo controle, o G2 foi inoculado com cistos teciduais da cepa ME49 de *Toxoplasma gondii*, e o G3 foi inoculado com oocistos da cepa M7741 de *T. gondii*. Após 60 dias da inoculação, os animais foram mortos, e coletou-se o íleo, o qual foi submetido à rotina de processamento histológico. Cortes transversais de 4mm foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE), Periodic Acid Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2,5 e Alcian Blue (AB) pH 1,0. Nos animais do G2, observou-se aumento da parede intestinal, sobretudo a túnica muscular, muscular da mucosa e túnica mucosa, além de aumento na secreção de mucinas neutras. Já nos animais do G3, houve uma atrofia da parede intestinal, sobretudo para a túnica mucosa, e aumento na secreção de mucinas neutras.

Palavras-chave: toxoplasmose, *Gallus gallus*, intestino delgado, histologia, células caliciformes, morfometria.

ABSTRACT

The effects of toxoplasmosis on the intestinal wall morphometry and the dynamic of mucins secreted in the chicken ileum were analyzed. Sixteen 26-day-old, male, Cobb broiler chicks (*Gallus gallus*) were used and randomly divided into three groups (G1, G2 and G3). G1 received no inoculum characterizing the control group, G2 was inoculated with tissue cysts of ME49 strain of *Toxoplasma gondii*, and G3 was inoculated with oocytes of M7741 strain of *T. gondii*. After 60 days of inoculation, the animals were killed and had their ileum collected and submitted to histological processing.

Transversal cuts (4mm) were stained with Hematoxylin-Eosine (HE), Periodic Acid Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2.5 and Alcian Blue (AB) pH 1.0. Intestinal wall increase was noticed for the animals from G2 – mostly the muscle tunic, the muscularis mucosae, and the mucous tunic, including the increase of secretion of neutral mucins. The animals from G3 presented atrophy of the intestinal wall – mostly the mucous tunic, and increase of the secretion of neutral mucins.

Key words: toxoplasmosis, *Gallus gallus*, small intestine, histology, goblet cells, morphometry.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma das zoonoses parasitárias mais comuns, tanto no homem, como nos animais, apresentando ampla distribuição geográfica. Estima-se que mais de um terço da população humana já foi exposta à infecção pelo *Toxoplasma gondii*, o causador dessa doença. Trata-se de um protozoário do filo Apicomplexa, parasita obrigatoriamente intracelular, que possui um ciclo de vida heteroxeno, caracterizado por uma ampla diversidade de hospedeiros, incluindo somente os felídeos como definitivos e várias espécies de mamíferos e de aves como intermediários (TENTER et al., 2000).

A infecção por *T. gondii* pode ocorrer pela (1) ingestão de oocistos liberados pelas fezes de felídeos, que podem estar presentes no solo, na água ou nos alimentos; (2) ingestão de carne crua ou malcozida, contendo cistos teciduais, e (3) transmissão de taquizóitos por via transplacentária (transmissão

¹Laboratório de Neurogastroenterologia Experimental, Universidade Paranaense (UNIPAR), 87502-210, Umuarama, PR, Brasil. E-mail: eduardoaraujo@unipar.br. *Autor para correspondência.

^{II}Laboratório de Medicina Veterinária e Saúde Pública, UNIPAR, Umuarama, PR, Brasil.

vertical). Casos raros de infecção por transplante de órgãos e transfusão sanguínea são também descritos (DUBEY & BEATTIE, 1988). Quanto às formas de vida do parasita nos hospedeiros intermediários (homem, mamíferos e aves), sabe-se que os taquizoítos possuem uma alta taxa proliferativa, o que propicia sua disseminação no hospedeiro, caracterizando a fase aguda da doença, enquanto que os cistos teciduais, repletos de bradizoítos, persistem por longo tempo, às vezes, a vida toda do hospedeiro, caracterizando a fase crônica da doença (FERREIRA et al., 2003).

Estudos indicam um elevado número de infectados em todo o mundo, tanto em humanos, quanto em animais. Entretanto, relatos de quadros clínicos severos e infecções letais são pouco frequentes (DUBEY & BEATTIE, 1988). Em humanos, a toxoplasmose pode acarretar sérios problemas clínicos, como linfadenopatia, cegueira, encefalite em indivíduos imunodeprimidos e malformações em indivíduos infectados durante a gestação, por isso é considerada um problema de saúde pública (DUBEY, 1998). Já em animais como cães, essa zoonose pode causar febre com lassidão, pneumonia, manifestações neurológicas, anorexia e diarreia; nos pequenos ruminantes, a toxoplasmose clínica está associada à febre, à dispnéia, à sintomatologia nervosa e ao aborto, em geral, em ovelhas, e mortalidade perinatal em cordeiros (KIM, 2007); nos suínos, induz a tosse, dispnéia e diarreia (WINGSTRAND et al., 1997); enquanto nas aves observa-se palidez, flacidez, perda de peso e diarreia (JONES et al., 1959).

Aves infectam-se quando ingerem oocistos presentes no solo, alimento e água. Quando felídeos alimentam-se de carne crua de aves (ou outros animais) contendo cistos teciduais, podem se infectar e produzir oocistos, os quais são posteriormente excretados em suas fezes, contaminando o ambiente, o que propicia que mais aves se infectem pelo parasito. Dessa forma, aves têm sido consideradas potenciais disseminadoras do *T. gondii* (AGANDA & BELINO, 1984) e bons indicadores de contaminação ambiental (DUBEY et al., 2006). Fato que pode ser ressaltado pelo estudo de GARCIA et al. (2000), que avaliou a soroprevalência de *T. gondii* em aves (*Gallus gallus domesticus*), na região Norte do Estado do Paraná, e constataram que 16 dos 155 animais avaliados eram reagentes à toxoplasmose. Essa elevada ocorrência desperta preocupações quanto a essa espécie por representar risco de infecção para o homem e outros animais quando consumida carne crua ou malcozida.

As aves, independentemente da idade, do sexo, da raça e de outras características, são susceptíveis à infecção, mas apenas aves jovens

desenvolvem sinais clínicos. Nesse contexto, estudos demonstram que o órgão mais afetado pela infecção do *T. gondii* nas aves é o intestino (25% a 30%) e que, na parede do intestino delgado, foram observados espessamento, com inflamação muito evidente, pontos hemorrágicos e diversos hematomas na região da mucosa (RUIZ et al., 2005). Contudo, poucos são os estudos que se dedicam ao entendimento das alterações histomorfométricas e de marcações histoquímicas da parede intestinal de aves infectadas por *T. gondii*. Dessa forma, neste estudo, foram analisadas as consequências dessa infecção para a morfometria da parede intestinal e a dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 16 frangos de corte machos (*Gallus gallus*) da linhagem Cobb, com 26 dias de idade ($1571,25 \pm 127,38$ g), os quais foram adquiridos em um criatório comercial, no Município de Umuarama, Paraná, Brasil. Antes de serem inoculados, os animais passaram por um período de adaptação ao ambiente por 10 dias, período em que foi coletado sangue por punção da veia cefálica, visando à detecção de anticorpos séricos (IgG) anti-*T.gondii*, pelo método de aglutinação direta. Somente animais com resultados negativos participaram deste estudo. Contudo, nenhum animal apresentou sorologia positiva. Durante todo o experimento, as aves foram mantidas em gaiolas apropriadas e alojadas no aviário do Hospital Veterinário da Universidade Paranaense – Campus Cruzeiro (Umuarama, Paraná, Brasil). As aves foram distribuídas aleatoriamente em três grupos, denominados de G1, G2 e G3, identificadas com anilha e tratadas com ração comercial COCARI® e água *ad libitum*.

O grupo G1 (n=4) foi mantido como controle, portanto não recebeu inóculo. As aves do grupo G2 (n=6) receberam, por via oral, 1,0 mL de suspensão, contendo 2×10^2 cistos teciduais da cepa ME49 de *Toxoplasma gondii* (genótipo II). As aves do grupo G3 (n=6) receberam, por via oral, 1,0 mL de suspensão, contendo 10^3 oocistos da cepa M7741 de *Toxoplasma gondii* (genótipo III).

Após 60 dias da inoculação, os animais foram sacrificados por deslocamento crânio-cervical. Por laparotomia, coletou-se o íleo de cada espécime, o qual foi lavado com solução de NaCl a 0,9% e fixado em solução de Bouin. Esses segmentos intestinais foram desidratados em série ascendentes de álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Cortes transversais de 4µm foram corados com Hematoxilina-

Eosina (HE) Periodic Acid Schiff (PAS), para detecção de mucinas neutras e sialomucinas lábeis, Alcian Blue (AB) pH 2,5, para detecção de sialomucinas e sulfomucinas, e Alcian Blue (AB) pH 1,0, para detecção de sulfomucinas, seguindo protocolo descrito por MYERS et al (2008). No caso das técnicas para detecção de glicoconjugados (PAS e AB), realizou-se contracoloração com hematoxilina.

Inicialmente realizou-se uma avaliação qualitativa da parede intestinal, utilizando lâminas coradas com PAS no intuito de se identificar cistos teciduais, já que a parede elástica dessa estrutura contém glicoconjugados neutros. A análise morfométrica da parede intestinal foi realizada a partir de imagens de cortes corados com HE capturadas por meio de uma câmera digital (Moticam 2000, 2.0 Megapixel) acoplada a um microscópio de luz trinocular (MOTIC B5). Imagens capturadas com a objetiva de 10X foram utilizadas para medir a espessura total da parede. Com a objetiva de 20X, mediu-se a espessura da túnica mucosa e da túnica muscular, e em 40X mensurou-se a espessura da muscular da mucosa. Foram realizadas 80 medidas de cada estrutura, distribuídas uniformemente em toda a circunferência intestinal de cada frango.

Foi quantificado também o número de células calciformes presentes em 0,3mm² de túnica mucosa de cada animal. Essa análise foi realizada com as lâminas submetidas às técnicas histoquímicas para detecção de glicoconjugados (PAS, AB pH 2,5 e AB pH 1,0).

Os dados numéricos coletados inicialmente foram submetidos ao teste D'Agostino-Pearson ou de Shapiro, para verificar o tipo de distribuição. Dados com distribuição normal são apresentados como média \pm desvio padrão. Nesse caso, para comparar os grupos G2 x G1 ou G3 x G1, utilizou-se Teste t de Student. Dados com distribuição livre são apresentados como mediana (percentil 25; percentil 75). Nesse caso, a comparação entre os grupos G2 x G1 ou G3 x G1 foi

realizada pelo teste de Mann-whitney. Em todos os testes estatísticos, valores de p menores que 0,05 foram considerados significantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os cortes histológicos, não se observou a presença de cistos teciduais de *T. gondii*. Cistos teciduais correspondem à forma de vida do *T. gondii* que lhe permite escapar do sistema imune e permanecer no hospedeiro. Teoricamente, cistos teciduais podem ser formados em quaisquer células do hospedeiro definitivo ou intermediário, porém o parasita apresenta maior tropismo para alguns tecidos. Nesse caso, destaca-se o tecido nervoso (Sistema Nervoso Central) e o tecido muscular. Por isso, é comum observar a presença de cistos teciduais no cérebro e coração de animais infectados (SUZUKI et al., 2007). Por outro lado, poucos são os trabalhos que relatam a presença de cistos teciduais no intestino (DUBEY et al., 1988).

Quanto à análise morfométrica da parede do íleo (Tabela 1), observou-se que, na parede total desse órgão, houve um aumento de 20,3% no G2 e uma diminuição de 12,0% no G3, em comparação ao G1 (P<0,05). Nota-se que o referido aumento no G2 ocorreu devido a um espessamento da túnica muscular, da muscular da mucosa e da túnica mucosa, enquanto que a redução da espessura da parede total observada no G3 se deveu a uma redução na espessura da túnica mucosa (P<0,05). Considerando que o tempo de infecção foi o mesmo, tanto para o G2, como para o G3, sugere-se que, para as aves deste estudo, a infecção causada por cistos teciduais da cepa ME49 (genótipo II) provavelmente tenha desencadeado uma maior proliferação celular e/ou um maior recrutamento de células do sistema imune. Portanto, um processo inflamatório mais expressivo e/ou de maior duração do que a infecção causada por oocistos da cepa M7741 (genótipo III). Nesse sentido, sabe-se que a homeostase intestinal é coordenada por respostas de diferentes

Tabela 1 - Mediana (percentil 25; percentil 75) da espessura da parede total, da túnica muscular, da muscular da mucosa e da túnica mucosa do íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*.

Parâmetro (µm)	G1	G2	G3
Parede total	297,6 (275,3; 328,9) ^{§ #}	358,2 (312,8; 428,4) [§]	261,8 (326,2; 317,3) [#]
Túnica muscular	190,2 (173,6; 203,9) [§]	196,5 (178,2; 212,7) [§]	188,2 (172,4; 209,9)
Muscular da mucosa	16,7 (14,2; 19,4) [§]	21,8 (18,6; 25,7) [§]	16,9 (14,6; 19,9)
Túnica mucosa	90,4 (77,4; 108,3) ^{§ #}	134,0 (110,9; 148,8) [§]	83,3 (73,2; 101,6) [#]

G1: Grupo Controle, G2: grupo infectado por cistos teciduais da cepa ME49 de *T. gondii* (genótipo II), G3: grupo infectado por oocistos da cepa M7741 de *T. gondii* (genótipo III). Valores marcados pelo mesmo símbolo ([§] entre G1 e G2 e [#] entre G1 e G3) numa mesma linha são significativamente diferentes (P<0,05).

tipos celulares, incluindo células do sistema imune e de outros sistemas. A interação entre essas células é ampliada durante a inflamação, aumentando a exposição das células receptoras a mediadores solúveis, tais como citocinas, secretadas por células imunes. A ação dessas citocinas pode alterar o metabolismo das células da parede intestinal, deixando-as hiper ou hipotróficas, dependendo do tipo de infecção e da intensidade da inflamação (MAWE et al., 2004). Isso poderia explicar a diferença observada entre a espessura da parede total do íleo nos animais do G2 e G3.

No que tange ao aumento de 3,3% observado na espessura da túnica muscular das aves do G2 ($P < 0,05$), vale destacar que um estudo recente sugere que esse estrato da parede intestinal tem uma grande importância imunológica. Esse estudo descreve que, ao longo do trato gastrointestinal de roedores, a túnica muscular é constituída por uma rede densa de macrófagos, havendo também outros poucos leucócitos. O estudo complementa que, em humanos, a túnica muscular é densamente povoada por macrófagos e mastócitos. Além disso, ressalta que macrófagos residentes na musculatura intestinal são os primeiros a conduzir e responder aos eventos inflamatórios após contato com endotoxinas secretadas por microrganismos, ativando a musculatura lisa, no intuito de conduzi-la a um estado de hipercontratibilidade para expulsão do parasito (BAUER, 2008).

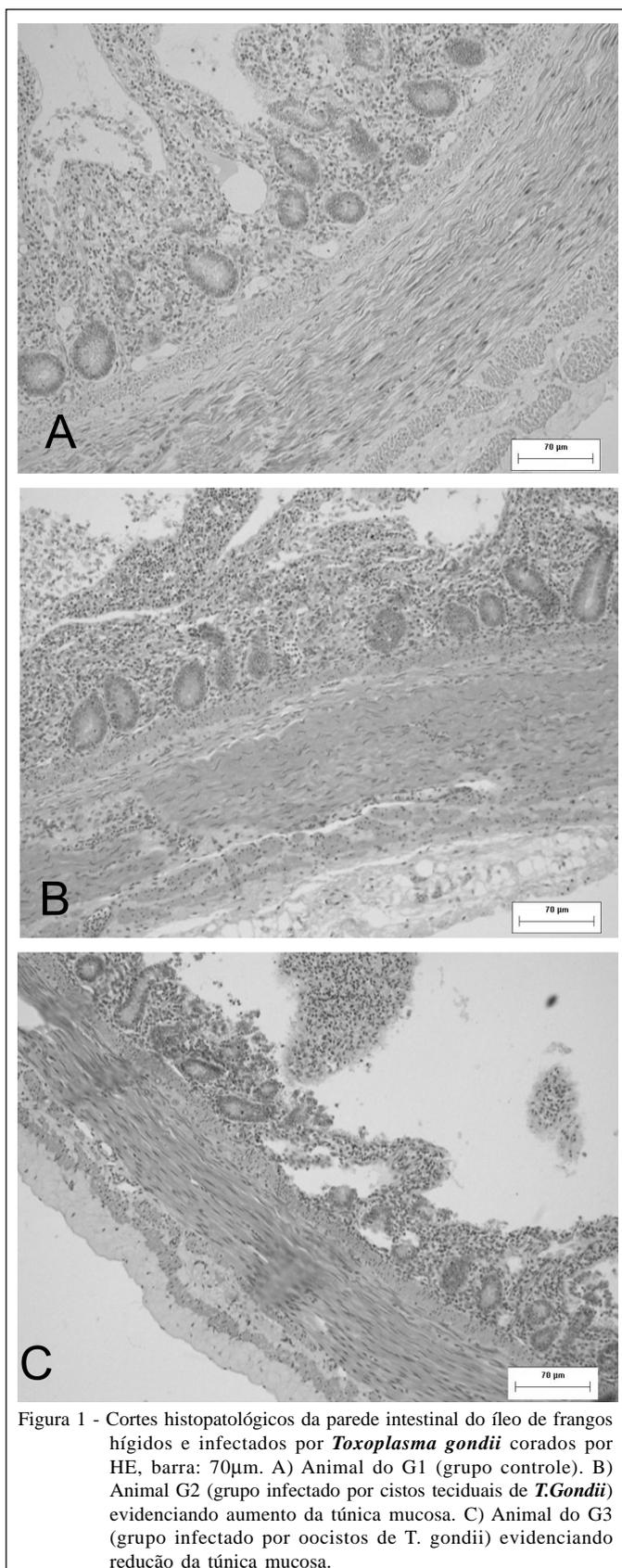
Isso pode ser um mecanismo que explique os sinais de diarreia muitas vezes observado em animais infectados por *T. gondii*. Nesse sentido, é imprescindível destacar que os animais deste estudo também apresentaram esse sinal clínico, porém de forma mais branda no G2 e mais intensa no G3 (GALLI et al., 2008). Nesse contexto, é importante recordar que a túnica muscular do intestino possui duas camadas de tecido muscular liso: uma mais interna, com células dispostas circularmente à luz intestinal, e outra mais externa, contendo células dispostas longitudinalmente (BOLELI, 2002). Entre essas duas camadas de músculo liso, encontra-se um grupo de neurônios ganglionados que forma o plexo mientérico (ou de Auerbach), que é o principal suprimento nervoso intrínseco da túnica muscular (FURNESS, 2006). Dessa forma, a diarreia observada nos animais do G2 e G3 pode ser explicada pelo fato de os neurônios mientéricos possuírem uma íntima associação com o sistema imune (BARBARA & GIORGIO, 2004), e a presença do *T. gondii* pode ter induzido a secreção de citocinas que ativaram neurônios mientéricos motores excitatórios. Há tempos se sabe que a idade das aves em estudos de infecção

experimental é um fator determinante para observação de sinais clínicos da toxoplasmose (KULASARI et al., 1965). Nesse sentido, RUIZ et al. (2005) relataram que pintinhos com cinco dias de idade, quando inoculados com 10, 1.000 ou 100.000 oocistos de *T. gondii*, morrem depois de 25, 15 e 10 dias após a inoculação, respectivamente. Nesse trabalho, relatam diarreia severa, debilidade, anorexia e perda de peso. Além disso, as aves, enquanto estavam vivas, permaneceram com diarreia até 15 dias após a inoculação.

No que tange à espessura da muscular da mucosa, observou-se que os animais do G2 tiveram um aumento de 30,5% ($P < 0,05$), quando comparados ao G1. Porém, no G3 não houve alteração morfométrica dessa estrutura. Como também foi observado um aumento da espessura da túnica mucosa (discutido a seguir) no G2, sugere-se que a infecção causada por cistos teciduais da cepa ME49 provavelmente tenha provocado um aumento da espessura da muscular da mucosa, o que, conseqüentemente, pode aumentar a sua força muscular, para resistir à pressão conseqüente à hiperplasia de células da mucosa, decorrente do processo inflamatório, e manter a motilidade da mucosa, de forma a manter seu papel fisiológico. Não foram encontrados trabalhos na literatura que avaliassem especificamente a espessura muscular da mucosa em animais infectados por *T. gondii*. Contudo, há um relato de renas infectadas por oocistos da cepa ME49 de *T. gondii* que se tornaram doentes dois dias após a inoculação e morreram de enterite aguda após nove dias da inoculação. A necropsia revelou destruição da mucosa intestinal com preservação das glândulas próximas à muscular da mucosa (OKSANEN et al., 1996).

Para finalizar os resultados da análise morfométrica realizada neste estudo, observou-se que a túnica mucosa aumentou 48,3% no grupo G2 e reduziu 7,8% no G3 em relação ao G1 ($P < 0,05$), como ilustrado na figura 1. Esses achados denunciam mais uma vez que a reação da parede do íleo de frangos infectados por cistos teciduais da cepa ME49 de *T. gondii* foi mais intensa, mais expressiva e mais duradoura que nas aves infectadas por oocistos da cepa M7741 de *T. gondii*. Essas distintas reações podem ser explicadas pelo fato de terem sido utilizadas, neste estudo, diferentes cepas e doses para inocular os animais dos grupos G2 e G3. Quanto à túnica mucosa, sabe-se que é composta de um epitélio intestinal, uma lâmina própria e uma muscular da mucosa (SHU-XIN - ZHANG, 2001) e representa uma barreira fisiológica e morfológica, com complexas funções de seleção e defesa (MADI et al., 2001).

Segundo FERGUSON & DUBREMETZ (2007), quando o hospedeiro intermediário é infectado



por meio da ingestão de cistos teciduais ou oocistos de *T.gondii*, os zoítos liberados no lúmen do intestino delgado invadem enterócitos ou linfócitos intraepiteliais e alcançam a lâmina própria, onde se diferenciam em taquizoítos e invadem células presentes nesse local. Quando taquizoítos interagem com mastócitos presentes na lâmina própria, desencadeia-se um processo de quimiotaxia para neutrófilos, macrófagos e linfócitos (FERREIRA et al., 2004). Essas células também são atraídas por moléculas secretadas por enterócitos presentes na região baso-lateral das criptas intestinais (KASPER et al. 2004). O recrutamento de células do sistema imune para a mucosa pode ser uma explicação para o aumento dessa camada observado nos animais do G2, e este pode ser considerado um processo-chave para contenção do parasito, já que se sabe que a depleção de neutrófilos em camundongos diminui a resistência do organismo à infecção pelo *T. gondii* (BLISS et., 2001). Quanto à imunidade da mucosa, é importante lembrar que o íleo (órgão avaliado neste estudo) contém um volume muito grande de células do sistema imune, de forma bastante organizada, formando nódulos linfóides (Placas de Peyer), e que, na verdade, os tecidos linfóides associados à mucosa correspondem ao maior órgão imune do organismo animal (WERSHIL & FURUTA, 2008).

A necropsia de um felídeo (*Felis manul*) com toxoplasmose que vivia num zoológico em Wisconsin (EUA) demonstrou uma grande quantidade de taquizoítos de *T. gondii* no intestino, os quais provocaram lesões da lâmina própria culminando numa enterite aguda (DUBEY et al., 1988). Num estudo experimental com camundongos infectados intraperitonealmente pela cepa RH, observou-se, na mucosa intestinal, imagens com aparência de “olho de coruja” em conjunto com o *T. gondii* (GUIMARÃES et al., 1997).

Vários estudos descrevem a presença de necrose generalizada do intestino em animais infectados por *T. gondii* como sendo a principal causa de óbito por toxoplasmose (DUBEY et al., 1988; OKSANEN et al., 1996; GUIMARÃES et al., 1997; EPIPHANIO et al., 1999; LIESENFELD et al., 2004; ANDRADE et al., 2007).

Além da avaliação morfométrica da parede, em função da diarreia praticamente constante nos animais do G2 e G3, este estudo também investigou a dinâmica de glicoconjugados (mucinas) secretados pela mucosa intestinal por meio do número de células caliciformes marcadas por PAS (mucinas neutras), Alcian Blue pH 2,5 (mucinas ácidas não sulfatadas: sialomucinas) e Alcian Blue pH 1,0 (mucinas ácidas sulfatadas: sulfomucinas) e observou-se diferença significativa somente no número de células marcadas por PAS (Tabela 2). Nesse sentido, vale destacar que mucinas são glicoproteínas poliméricas que constituem o principal componente do muco que recobre o epitélio do trato gastrointestinal. A principal função do muco é proteger o epitélio de agressores químicos, físicos e biológicos, que podem estar presentes na luz intestinal. Dependendo da composição de seus monossacarídeos, as mucinas são classificadas em neutras e subtipos ácidos: não-sulfatadas (sialomucinas) e sulfatadas (sulfomucinas). As mucinas neutras contêm monossacarídeos de manose, galactose e galactosamina. As sialomucinas compõem um grupo que contém diversos monossacarídeos, compostos de nove carbonos, e na posição C1 há um grupo carboxilato, que está sempre ionizado a um pH fisiológico. Mucinas que contêm um grupo sulfatado ligado ao carboidrato (sulfomucinas) são significativamente mais ácidas que as sialomucinas (MYERS et al., 2008).

Como não houve diferença significativa para as células marcadas com AB (técnica que evidencia mucinas ácidas), pode-se assegurar que, neste estudo, houve somente alteração no perfil secretório de mucinas neutras. Na verdade, quanto ao número de células PAS-reativas, houve um aumento de 40,9% no G2 e de 36,9% no G3, quando comparados ao G1 ($P < 0,05$). Como o muco neutro apresenta-se mais denso que o muco ácido, num meio aquoso, atribui-se ao primeiro uma maior capacidade de proteção e lubrificação, quando as células mucosas são expostas a agentes abrasivos e irritantes (BEAMISH et al., 1972).

Por outro lado, deve-se considerar que a avaliação realizada neste estudo ocorreu 60 dias após a inoculação e que nesse momento possivelmente não havia mais a presença do parasita na luz intestinal, porém os animais do G2 e do G3 apresentaram contínua diarreia, sobretudo no G3. Dessa forma, sugere-se que o aumento da secreção de mucinas neutras no G3 e G2 teria a finalidade de deixar mais denso o muco que recobria o epitélio, no intuito de protegê-lo da abrasão que normalmente ocorre durante a diarreia. Estudos de infecção experimental com *T. gondii* demonstram que esporozoítos atravessam a mucosa intestinal, tanto pelos enterócitos, como pelas células caliciformes (SPEER & DUBEY, 1998). Quando camundongos são coinfetados por *T. gondii* e *Nippostrongylus brasiliensis*, o número de células caliciformes não se altera; contudo, quando infectados somente com *N. brasiliensis*, observa-se um aumento significativo do número de células caliciformes (LIESENFELD et al., 2004). Há ainda relatos da presença do parasita em células caliciformes da conjuntiva de cobaias minutos após a inoculação (SKORICH et al., 1988). Contudo, não há outras investigações que avaliaram a dinâmica da secreção de glicoconjugados em indivíduos infectados por *T. gondii*.

CONCLUSÃO

Conclui-se que uma infecção durante 60 dias, causada por cistos teciduais da cepa ME49 de *T. gondii*, provoca aumento da espessura da parede e aumento da secreção de mucinas neutras no íleo de frangos, enquanto que uma infecção, também por 60 dias, causada por oocistos da cepa M7741 de *T. gondii*, provoca uma atrofia da túnica mucosa e um aumento da secreção de mucinas neutras no íleo de frangos.

AGRADECIMENTOS E APRESENTAÇÃO

Os autores agradecem à mestranda em Ciência Animal da Universidade Paranaense (UNIPAR) Catchia Hermes pelo auxílio na análise estatística. Este trabalho foi integralmente financiado pela Universidade Paranaense – UNIPAR.

Tabela 2 - Número de células caliciformes evidenciadas por técnicas histoquímicas para glicoconjugados em uma área de 0,3mm² de túnica mucosa do íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*.

Técnica	G1	G2	G3
PAS	791,8 ± 177,7 [§]	1116,0 ± 175,9 [§]	1084,2 ± 85,1 [#]
AB pH 2,5	645,2 ± 114,1	731,2 ± 223,8	800,5 ± 138,9
AB pH 1,0	695,5 (607,8; 761,0)	709,2 (604,9; 734,1)	732,2 (660,1; 836,8)

PAS: Periodic-Acid-Schiff; A.B: Alcian Blue. Valores expressos como média ± desvio padrão ou mediana (P25; P75). Valores marcados pelo mesmo símbolo ([§]entre G1 e G2 e [#]entre G1 e G3) numa mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$). G1: Grupo Controle, G2: grupo infectado por cistos teciduais da cepa ME49 de *T. gondii* (genótipo II), G3: grupo infectado por oocistos da cepa M7741 de *T. gondii* (genótipo III).

COMITÊ DE ÉTICA

O delineamento experimental deste estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal da Universidade Paranaense (protocolo nº 10161/2007).

REFERÊNCIAS

- AGANDA, A.O.; BELINO E.D. Toxoplasmosis in local breed of chicken in Zaria, Nigéria. **International Journal Zoonoses**, v.11, n.2, p.170-172, 1984.
- ANDRADE, M.C.R. et al. Toxoplasmosis in squirrel monkeys: histological and immunohistochemical analysis. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1724-1727, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000600034>. Acesso em: 18 mai. 2009. doi: 10.1590/S0103-84782007000600034.
- BARBARA G.; GIORGIO R. Inflammation. In: SPILLER, R.; GRUNDY. **Pathophysiology of the enteric nervous system: a basis for understanding functional diseases**. Oxford: Blackwell, 2004. Cap.6, p.61-78.
- BAUER, A.J. Mentation on the immunological modulation of gastrointestinal motility. **Neurogastroenterol Motility**, v.20, suppl.1, p.81-90, 2008.
- BEAMISH, R.J. et al. Lethal pH for white sucker *Catostomus commersoni* (Lacépède). **Transactions of the American Fisheries Society**, v.101, p.335-358, 1972.
- BLISS, S.K. et al. Neutrophil depletion during *Toxoplasma gondii* infection leads to impaired immunity and lethal systemic pathology. **Infection and Immunity**, v.69, n.8, p.4898-4905, 2001. Disponível em: <<http://iai.asm.org/cgi/content/full/69/8/4898>>. Acesso em 18 mai. 2009. doi: 10.1128/IAI.69.8.4898-4905.2001.
- BOLELI, I.S. et al. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. In: BOLELI et al. **Estrutura funcional do trato digestório**. Jaboticabal: Funep/Unesp, 2002. Cap.5, p.75-95
- DUBEY J.P. et al. Fatal toxoplasmosis and enteroepithelial stages of *Toxoplasma gondii* in a pallas cat (*Felis manul*). **Journal Protozoology**, v.35, n.4, p.528-530, 1988.
- DUBEY, J.P., BEATTIE, C.P. Toxoplasmosis in man (*Homo sapiens*). In: _____. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca raton: CRC, 1988. Cap.2, p.41-60.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: PALMER, S.R. et al. **Zoonoses**. Oxford: Oxford University, 1998. Cap36, p.948.
- DUBEY, J.P. et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brasil. **Journal of Parasitology**, v.92, n.1, p.36-40, 2006.
- EPIPHANIO S. et al. Toxoplasmosis in emperor tamarin (*Saguinus imperator*): case report. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.36, n.2, p.72-74, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95961999000200003>. Acesso em 18 mai. 2009. doi: 10.1590/S1413-95961999000200003.
- FERGUSON, D.J.P.; DUBREMETZ J.F. The ultrastructure of *Toxoplasma gondii*. In: WEISS, L.; KIM, K. **Toxoplasma gondii. The model apicomplexan. Perspectives and methods**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap.2, p.19-48.
- FERREIRA, M.U. et al. *Toxoplasma gondii* e toxoplasmose. In: _____. **Fundamentos biológicos da parasitologia humana**. São Paulo: Manole, 2003. Cap.3, p.17-25.
- FERREIRA, G.L.S. et al. *Toxoplasma gondii* and mast cell interactions in vivo and in vitro: Experimental infection approaches in *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). **Microbes and Infection**, v.6, n.2, p.172-181, 2004.
- FURNESS, J.B. **The enteric nervous system**. Malden: Blackwell, 2006. Cap.1, p.1-28.
- GALLI, S. et al. Infecção experimental de frangos domésticos (*Gallus gallus*) com cepas geneticamente distintas de *Toxoplasma gondii*. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.542-550, 2008.
- GARCIA, J.L. et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.123-127, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782000000100020&script=sci_arttext&tling=>>. Acesso em 18 mai. 2009. doi: 10.1590/S0103-84782000000100020.
- GUIMARÃES, A.C. et al. Experimental toxoplasmosis and immunosuppression (parasite evaluation and histological alterations). **Revista do Hospital das Clínicas Faculdade de Medicina São Paulo**, v.52, n.6, p.316-320, 1997.
- JONES, F.E. et al. Experimental toxoplasmosis in chickens. **Journal of Parasitology**, v.45, p.31-37, 1959.
- KASPER, L. et al. *Toxoplasma gondii* and mucosal immunity. **International Journal for Parasitology**, v.34, p.401-409, 2004.
- KULASARI, C.S. et al. Infection of the chicken with avirulent *Toxoplasma gondii*. **Experimental Parasitology**, v.17, n.1, p.65-68, 1965.
- LIESENFELD, O. et al. Infection with *Toxoplasma gondii* reduces established and developing Th2 responses induced by *Nippostrongylus brasiliensis* infection. **Infection and immunity**, v.72, n.7, p.3812-3822, 2004. Disponível em: <<http://iai.asm.org/cgi/content/full/72/7/3812>>. Acesso em 18 mai. 2009. doi: 10.1128/IAI.72.7.3812-3822.2004.
- MADI, K. et al. Arquitetura da mucosa intestinal e sua plasticidade. In: ELIA, C.C.S; SOUZA, H.S.P. **Imunologia da mucosa intestinal**. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap.2, p.11-39.
- MAWE, G.M. et al. Changes in enteric neural circuitry and smooth muscle in the inflamed and infected gut. **Neurogastroenterology Motility**, v.16, suppl.1, p.133-136, 2004.
- MYERS B.M. et al. Carbohydrates. In: BANCROFT, J.D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 6.ed. Philadelphia: Elsevier, 2008. Cap.11, p.161-187.

- OKSANEN, A. et al. Experimental *Toxoplasma gondii* infection leading to fatal enteritis in reindeer (*Rangifer tarandus*). **Journal Parasitology**, v.82, n.5, p.843-845, 1996.
- RUIZ, A.I. et al. Patología em pollos inoculados oralmente com diferentes concentraciones de ooquites de *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Latinoamericana**, v.60, n.1-2, p.43-47, 2005. Disponível em: < <http://www.scielo.cl/pdf/parasitol/v60n1-2/art06.pdf>>. Acesso em: 18 Maio 2009.
- SHU-XIN-ZHANG, M.D. **Atlas de histologia: texto e atlas em cores**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap.10, p.187-252.
- SKORICH, D.N. et al. Invasion of the guinea pig conjunctiva by *Toxoplasma gondii*. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.29, n.12, p.1871-1880,1988.
- SPEER C.A.; DUBEY J.P. Ultrastructure of early stages of infections in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Parasitology**, v.116, n.1, p.35-42, 1998.
- SUZUKI, J. et al. Cerebral toxoplasmosis: pathogenesis and host resistance. In: WEISS, L.; KIM, K. ***Toxoplasma gondii: the model apicomplexan. Perspectives and methods***. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap.21, p.567-591.
- TENTER, A.M. et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, v.30, p.1217-1251, 2000.
- WERSHIL, B.K.; FURUTA, G.T. Gastrontestinal mucosal immunity. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v.121, n.2, p.380-383, 2008.
- WINGSTRAND, A. et al. Clinical observation, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary**, v.72, n.2, p.129-140, 1997.