

Aspectos biológicos de *Eimeria caviae* Sheather, 1924 (Apicomplexa: Eimeriidae) de uma infecção experimental em cobaios *Cavia porcellus* Linnaeus de criações rústicas

Gilberto Flausino | Walter Leira Teixeira Filho | Carlos Wilson Gomes Lopes

Submetido em 17.06.2014

Aceito em 13.10.2014

Abstract Flausino G, Teixeira-Filho WL, Lopes CWG. **Aspectos biológicos de *Eimeria caviae* Sheather, 1924 (Apicomplexa: Eimeriidae) de uma infecção experimental em cobaios *Cavia porcellus* Linnaeus de criações rústicas** [Biological aspects of *Eimeria caviae* Sheather, 1924 (Apicomplexa: Eimeriidae) from an experimental infection in guinea pigs *Cavia porcellus* Linnaeus of rustic breedings] *Coccidia* 2, 46-51. Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: gilflausino@ufrj.br

Eimeria caviae oocysts were recovered from fecal samples of 10 Guinea pigs from rustic breedings at Municipality of Seropédica in the State of Rio de Janeiro, Brazil. After the sporulation time in potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) at 2.5%, a dosage of 10^6 sporulated oocysts was given orally to five Guinea pigs; the five others were kept as control. Periods, pre-patent and patent, were five and seven days respectively, characterizing this strain as of short period. Oocysts recovered from the stool samples measure $20.9 \times 17.7 \mu m$. No clinical signs were observed in experimentally infected animals.

Keywords *Eimeria caviae*, biology, clinic, *Cavia porcellus*, Guinea pig.

Resumo Oocistos de *Eimeria caviae* foram recuperados de amostras de fezes de 10 porquinhos-da-índia de criações rústicas no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Após o tempo de esporulação em dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5%, uma dosagem de 10^6 oocistos esporulados foi

dada por via oral a cada um dos cinco cobaios, os cinco outros foram mantidos como controle. Os períodos, pré-patente e patente, foram cinco e sete dias respectivamente, caracterizando esta espécie como uma linhagem de curto período. Oocistos esporulados, recuperados a partir das amostra de fezes desses animais tiveram diâmetros medindo $20,9 \times 17,7 \mu m$ respectivamente. Não foram observados sinais clínicos nos animais infectados.

Palavras-chave *Eimeria caviae*, biologia, clínica, *Cavia porcellus*, porquinho-da-Índia.

Introdução

O cobaio, vulgarmente conhecido como porquinho-da-índia, é um animal roedor cuja espécie *Cavia porcellus*, assinalada inicialmente entre os Incas na região andina, foi introduzido como animal de criação entre os povos colonizadores. Posteriormente, difundido como animal de companhia e, mais tarde, como animal de laboratório (Andrade et al. 2002). A partir da convivência com humanos, seja na forma de mascote ou como animal

G Flausino ✉

Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brasil.
E-mail: gilflausino@ufrj.br

WL Teixeira-Filho | CWG Lopes

Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Parasitologia, UFRRJ. BR-465 km 7, 23897-970, Seropédica, RJ, Brasil.
E-mail: leira@ufrj.br, lopescw@ufrj.br

de laboratório, passou-se a ter mais cuidado com as enfermidades nessa espécie. Dentre as doenças que os acometem pode-se destacar a eimeriose por *Eimeria caviae* onde seus oocistos podem ser observados com certa frequência em suas fezes (Sheather 1924), porém só recentemente seus oocistos esporulados foram descritos detalhadamente por Flausino et al. (2014).

Pouca importância é dada aos estudos sobre a prevalência e intensidade das parasitoses intestinais na criação de cobaios nos biotérios no Brasil (Alves et al. 2007). De uma maneira geral, a coccidiose guarda especificidade com seu hospedeiro onde tem sido associada a um só parasito intracelular, *E. caviae* (Sheather, 1924). Seus principais sintomas são fraqueza, diarreia, e acentuada perda de peso. No entanto, segundo Williams (1976), não é considerado como problema em criações de cobaios nas instituições de pesquisa, pois, não é considerada patogênica, porém podem ocorrer, ocasionalmente, colite e diarreia, que em alguns casos pode levá-los a óbito.

Este trabalho tem como objetivo determinar os aspectos biológicos e verificar a possibilidade de haver alterações gastrintestinais com amostras de *E. caviae* procedentes de animais de criações rústicas.

Material e Métodos

As amostras de fezes frescas foram coletadas, de forma aleatória, de quatro criações rústicas de porquinhos-da-índia visitadas no Município de Seropédica, RJ (22° 44' 29" S e 43° 42' 19") e trazidas para processamento no Laboratório de Coccídios e Coccidioses no Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ. Cada amostra foi examinada com a finalidade de determinar a presença de oocistos de coccídios. Das quatro criações visitadas somente uma (25%) foi positiva para *E. caviae*. Após a confirmação da positividade, foram coletadas fezes de três (10%) animais positivos dentre um total de 30 (trinta) existentes na criação. O material foi processado em uma solução aquosa de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5% para indução de esporulação dos oocistos, para futuras infecções experimentais.

Para infecção experimental foi utilizado

um total de dez cobaios divididos em dois grupos de cinco animais cada (controle e infectados), sendo cada grupo composto de quatro animais da linhagem short hair albinos, obtidos em biotério de referência (Cecal/Fiocruz/RJ) e um animal mestiço bicolor/roseta de criação rústica, todos com idade aproximada de três meses e com média de peso de 416,4 gramas. Todos os animais foram previamente submetidos a exame de fezes diários, pelo método de centrífugo-flutuação de Sheater (1924), modificado por Duszynski & Wilber (1997), por um período de sete dias consecutivos, para verificar a possível presença de oocistos de *E. caviae* nas fezes. Após esse período, foram acondicionados, individualmente, em caixas plásticas com 60 × 40 × 20cm, previamente lavadas com água fervente e desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio a 10% e, a seguir secas e forradas com areia higiênica comercial; enquanto que as grades tampas foram flambadas com o uso e vassoura de fogo.

Após 15 dias, o segundo grupo foi infectado por via oral com auxílio de uma sonda de gavage com 106 oocistos esporulados de *E. caviae* por animal para verificação dos períodos pré-patente (PPP) e patente (PP), bem como, da variação no ganho de peso e manifestações clínicas.

Para cálculo de seu tamanho médio foram mensurados 150 oocistos esporulados e íntegros. Para tanto, utilizou-se uma ocular micrométrica K-15X PZO (Polônia), acoplada ao microscópio binocular Carl Zeiss.

Todos os animais foram doados, ao final do experimento, para uma das criações rústicas que previamente tinha sido feito o diagnóstico da presença do referido coccídio no plantel.

Este estudo foi submetido ao comitê de ética da UFRRJ com o nº de protocolo 009759/2013. Nenhum desses animais foram eutanaziados e sim doados aos criadores da região que já tinham *E. caviae* diagnosticada no plantel.

Resultados e Discussão

Os PPP de *E. caviae* observados variaram de cinco a sete dias após infecção (DAI). Estes resultados foram semelhantes às observa-

ções de Moore (1976) para cepas atenuadas, consideradas como pouco patogênicas, porém, estes dados não foram considerados de maneira unânime. Além disso, o período patente, de sete dias, observado neste trabalho, corrobora com o encontrado por Moore (1976), independente de ser uma cepa atenuada ou não (Tabela 1). Como se pode ver, pouca informação se tem sobre se é uma cepa patogênica ou não. Sua curva de eliminação está expressa na Figura 1. A esporulação dos oocistos de *E. caviae* iniciou-se no 4º dia e seu percentual é mostrado na Figura 2, onde também há uma comparação deste com todos os DAI. Analisando-o, vê-se que houve um maior percentual de esporulação nas amostras coletadas entre o segundo e o terceiro dia de eliminação, com o pico no segundo dia, onde a taxa de esporulação (TE) foi superior a 90%. Segundo Couderet et al. (1995) um boa TE seria de 80% para que ocorra uma boa resposta a infecção. Ao comparar os dados obtidos neste trabalho com dos outros autores assinalados na Tabela 1 observa-se que os oocistos eliminados por cobaios de criação rústica foram semelhantes aos das cepas consideradas como atenuadas.

Em infecção experimental, na dose de 106 oocistos esporulados de *E. caviae*, não houve eimeriose, pois não houve desenvolvimento e sinais clínicos nos animais.

Tal fato contraria os resultados encontrados nas infecções experimentais conduzidas anteriormente com cepas de *E. caviae* por Sheater (1924), Lapage (1940), Wellis & Wright (1961), Muto et al. (1985a), Soulsby (1987) e Matsui et al. (1996), este último utilizando a cepa selvagem. Entretanto, corroboram com os resultados encontrados por Matsui et al. (1996), quando utilizou uma cepa atenuada, após várias passagens e com Moore (1976), que também utilizou uma cepa de *E. caviae* atenuada por sucessivas passagens.

De acordo com Flausino et al. (2014) os oocistos esporulados apesar de polimórficos apresentam as mesmas características encontradas neste trabalho (Figura 3). Todos afirmaram que *E. caviae* infecta as células epiteliais da camada mucosa do ceco e do cólon e não do intestino delgado, local este, caso houvesse infecção, resultaria na síndrome da má absorção (Rigby 1976), caracterizada principalmente por queda no ganho de peso e no seu

Tabela 1. Variação dos períodos de eliminação de *Eimeria caviae* de cobaios

Autores	Período ^a		Tempo de esporulação (dias)	Observações
	Pré-patente	Patente		
Matsui et al. (1996)	11-12 6	--	--	O menor PP, sucessivas passagens
Hijima et al. (1989)	11	--	--	Infecção maciça, Óbito as 13 DAI
	13	--	--	Infecção leve
Moore (1976)	11-13	7-13	--	--
	5-6	--	--	PP de passagens sucessivas
Sheater (1924)	--	--	4-8	--
Henry (1932)	--	--	5-8	Segundo Bugge & Heinke (1923)
Soulsby (1987)	7-12	--	--	--
Lapage (1940)	--	--	9-11	--
Presente trabalho	5	6-7	4-7	Amostras de criações rústicas

^aDias após Infecção

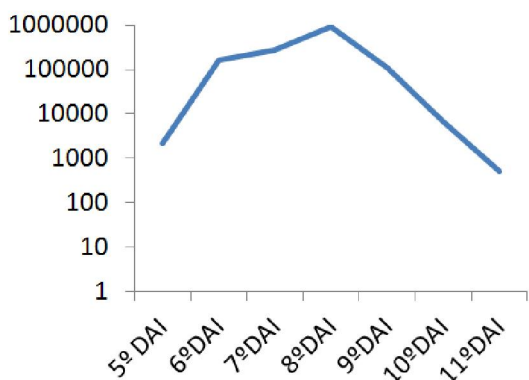


Figura 1. Eliminação média de oocistos *Eimeria caviae* por grama de fezes (OoPG) por *Cavia porcellus* infectados com 10^6 oocistos esporulados/ml.

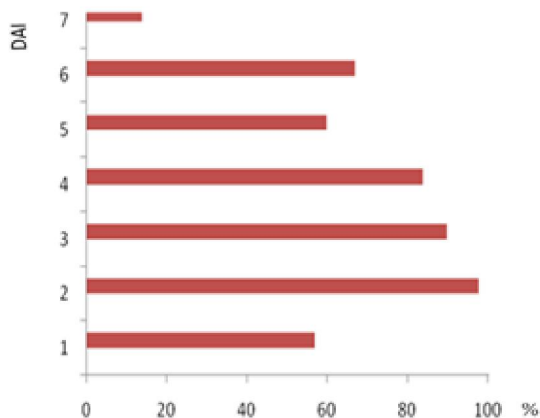


Figura 2. Taxa de esporulação de oocistos de *Eimeria caviae* eliminados por *Cavia porcellus* infectado experimentalmente com 106 oocistos esporulados *per os*, correspondente aos respectivos dias de eliminação.

peso total final, o que não ocorreu neste trabalho, onde ambos os dados observados durante a fase de infecção não foram significativos quando se comparou o peso dos animais do grupo controle com os do grupo infectado com 106 oocistos esporulados de *E. caviae* por via oral. Não se observou nenhum sinal clínico da infecção, independente de ser uma cepa isolada de criações rústicas e não de animais de laboratório. Ou melhor, isoladas de porquinhos-da-índia em vez de cobaios albinos de laboratório.

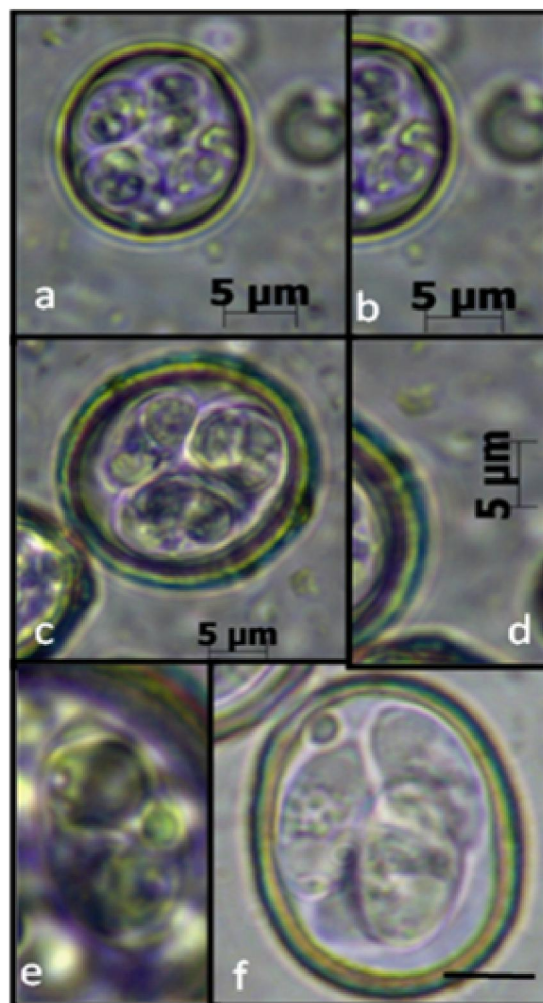


Figura 3. Oocistos esporulados de *Eimeria caviae*: Formatos, pequeno subsférico (a, b); médio ovóide (c) e Parede externa rugosa e interna lisa (d); Corpo de Stieda em forma de botão achatado (e); granulo polar grande elipsoidal (f). Solução saturada de Sacarose. (barra= 5µm).

Concluindo, a cepa de *E. caviae* isolada não foi patogênica na dose infectante empregada de 106 oocistos esporulados, tendo-se em vista a não manifestação de sinais clínicos da doença e, conseqüentemente, a não interferência no desenvolvimento ponderal dos animais infectados em relação aos animais do grupo controle como se observa na Tabela 2.

Fato exposto, esta cepa de *E. caviae* assemelha-se a descrita como atenuada por Matsui et al. (1996).

Tabela 2. Desenvolvimento ponderal de cobaias de criação rústica desafiados com 10^6 oocistos esporulados de *Eimeria caviae* por via oral.

Dias após Infecção	Ganho de Peso médio (g) ^a			Peso médio final (g)		
	n=5 ^b		Valor de <i>p</i>	n=5		
	Controle	Infectado		Controle	Infectado	Valor de <i>p</i>
0	47,68±30,86	38,82±7,05	0,5489	417,50±70,11	415,36±69,35	0,9625
3	31,12±28,08	32,66±18,97	0,9216	434,06±69,56	426,44±82,09	0,8781
5	28,28±23,20	49,68±15,58	0,1252	439,15±71,54	415,42±78,73	0,6546
7	18,74±16,19	26,61±8,92	0,3657	446,44±56,58	432,40±87,27	0,7573
9	7,84±12,36	54,99±9,90	0,5256	457,34±58,42	446,48±76,99	0,8079
11	0	0	0	465,18±46,87	459,10±80,78	0,8879

^a Teste *t* de Student^b Número de animais

Referências Bibliográficas

- Alves LC, Borges CCA, Da Silva S, Couto SER, Menezes RC. Endoparasitos em cobaias (*Cavia porcellus*) (Mammalia, Rodentia, Caviidae) provenientes de biotérios de criação e experimentação do município do Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Rural*, 37, 1380-1386, 2007.
- Andrade A, Pinto SC, Oliveira LS. *Animais de Laboratório – Criação e Experimentação*. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz. 2002. 387p.
- Coudert P, Licois D, Drouet-Viard F. *Eimeria* species and strains of rabbits. In: Eckert J, Braun R, Shirley MW, Coudert P. *Guidelines on techniques in coccidiosis research*. Luxemburgo: Office for Official Publications of the European Communities, 1995. p. 53-73.
- Duszynski DW, Wilber PG. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *Journal of Parasitology*, 83, 333-336, 1997.
- Flausino G, Berto BP, McIntosh D, Furtado TT, Teixeira Filho WL, Lopes CWG. Phenotypic and genotypic characterization of *Eimeria caviae* from guinea-pigs. *Acta Protozoologica*, 53, 267-274, 2014.
- Henry DP. Coccidiosis of the guinea pigs. *University California Publications in Zoology*, 37, 211-268, 1932.
- Hijima T, Matsui T, Morii T, Kobayashi F, Fujino T. Effects of sulfadimethoxine and sulfamonomethoxine against *Eimeria caviae* infection in guinea pigs. *Japanese Journal of Parasitology*, 38, 129-134, 1989.
- Lapage G. The Study of Coccidiosis (*Eimeria caviae* [Sheather 1924]) in the Guinea Pig. Part I & Part II. *Veterinary Journal*, 96,144-154; 190-202; 242-254; 280-295; 1940.
- Matsui T, Fugino T, Kobayashi F, Tsutsui Y, Tsuji M. Attenuation of *Eimeria caviae* by selection for precocious development. *International Journal for Parasitology*, 26, 1242-1248, 1996.
- Moore CB. *A cytological study of the sporozoites of Eimeria caviae, a coccidian parasite of the domestic guinea pig, cavia porcellus*. 1976. 56 f. Thesis. Drake University, School of Graduate Studies. United State.
- Muto T, Sugisaki M, Yusa T, Noguchi Y. Studies on coccidiosis in Guinea pigs 1. Clinico-pathological observation. *Experimental Animal*, 34, 23-30, 1985a.
- Rigby C. Natural infections of guinea-pigs. *Laboratory Animal*, 10, 119-142, 1976.
- Sheather AL. Coccidiosis in the guinea-pig. *Journal of Comparative Pathology*, 246, 1924.
- Sampaio IBM. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 3a.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002. 274p.
- Soulsby E.J.L. *Parasitología y enfermedades parasitarias em los animales domésticos*. 7ª Ed. México, Interamericana, 1987. 823p.

Wellis PA, Wright AE. Coccidiosis in guinea-pigs. *Journal of Clinical Pathology*, 14, 394-396, 1961.

Williams CSF. *Practical guide to Laboratory animals*. 1^a ed. Saint Louis, CV Mosby Co., 1976. 207p.