

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Toxoplasma gondii* EM FELINOS
DOMICILIADOS ATENDIDOS EM CLÍNICAS PARTICULARES DE
PORTO ALEGRE, RS, BRASIL.

LUCIANE DUBINA PINTO

PORTO ALEGRE

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Toxoplasma gondii* EM FELINOS
DOMICILIADOS ATENDIDOS EM CLÍNICAS PARTICULARES DE
PORTO ALEGRE, RS, BRASIL.

LUCIANE DUBINA PINTO

Dissertação apresentada como um dos requisitos
para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Doenças Parasitárias.

Orientador:

Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araujo

PORTO ALEGRE

2007

APROVADO POR:

PROF. DR. JERÔNIMO L. RUAS

Membro da Banca

PROF^a. DRA. MARY JANE TWEEDIE DE MATTOS GOMES

Membro da Banca

PROF^a. DRA. NEUSA SALTÍEL STOBBE

Membro da Banca

**“NÃO CHOREIS PELAS COISAS QUE ACABARAM,
SORRIA PELA OPORTUNIDADE DE TÊ-LAS REALIZADO.”**

**Aos meus pais Gaspar e Adelina,
ao meu esposo Marcelo,
aos meus irmãos,
aos meus amigos e colegas.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço Àquele que nos deu a oportunidade de estarmos aqui, neste mundo, para reparar o que fizemos de mal no passado e renovar as atitudes para um futuro de luz, resignação e esperança.

À minha família, pela compeensão nos momentos difíceis e ao inesgotável incentivo que sempre recebi.

Ao meu esposo Marcelo pela paciência e ajuda ao longo destes anos.

Aos meus amigos e familiares pela dedicação e força no decorrer do caminho.

À minha amiga Sandra, indispensável em todos os momentos, pelo exemplo e dom natural de uma verdadeira mestra.

Aos meus colegas do Laboratório de Protozoologia da UFRGS pelas orientações, ensinamentos e exemplos.

Às médicas veterinárias do PETLAB, Márcia Cordeiro, Mayra Seibert e Márcia Brites pela paciência, dedicação e oportunidade.

Às funcionárias do PETLAB Olga e Sônia pela recepção sempre calorosa.

Aos colegas veterinários que permitiram que seus pacientes participassem deste trabalho.

À Prof^a. Dra. Neusa Stobbe pela dedicação e exemplo, permitindo que parte do meu experimento fosse realizado com sucesso no Laboratório de Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS.

Ao Dr. Carlos Faraco e equipe e ao LABORVET pela ajuda recebida em um momento decisivo do trabalho.

Ao Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araujo, meu orientador, pela permissão de ter realizado este trabalho, pela orientação e valor que me dedicou.

RESUMO

O *Toxoplasma gondii* é um parasito coccídeo que se localiza intracelularmente em vários órgãos e tecidos de uma ampla gama de hospedeiros. O estudo da soropidemiologia, deste parasito, na espécie felina é de grande relevância, pois o estreito convívio de seres humanos com esses animais pode acarretar na transmissão de algumas doenças como a toxoplasmose. Com o objetivo de contribuir com dados sobre a frequência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em felinos domiciliados da cidade de Porto Alegre, os soros desses animais foram avaliados pelas técnicas de Hemaglutinação Indireta (HAI) e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). A frequência de anticorpos de *T. gondii* para a amostragem em 245 soros felinos foi de 26,94% pela técnica de HAI e 37,96% pela técnica de RIFI. Dados epidemiológicos foram incluídos no trabalho, como gênero, raça, idade, acesso ou não à rua e tipo de alimentação. Estes parâmetros foram analisados estatisticamente para mensurar suas influências nos resultados obtidos com os testes. A percentagem de co-positividade e co-negatividade nas duas técnicas foi de 56% e 90%, respectivamente, e uma percentagem de concordância total de 77,5%, enquanto que o valor Kappa foi de 0.49. Este estudo mostra que os valores encontrados são relativamente altos, levando-nos a crer, que estes felinos, em algum momento de sua existência poderiam ser fonte de contaminação ambiental, como potenciais eliminadores de oocistos, principalmente aqueles que têm livre acesso à rua.

Palavras-chave: anticorpos toxoplásmicos, felinos, HAI, RIFI, Porto Alegre

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is an intracellular coccidian parasite that infects several organs and tissues in a large variety of hosts. Its seroepidemiology in feline species is of great value since the close relationship between human beings and cats may serve as a vector for the transmission of some diseases such as toxoplasmosis. The sera of 245 cats from Porto Alegre, southern Brazil, were submitted to indirect hemagglutination antibody (IHA) test and to indirect immunofluorescence (IIF) assay in order to determine the frequency of antibodies against *Toxoplasma gondii*. The IHA test showed that 26.94% of the cats had antibodies against *Toxoplasma gondii* compared to 37.96% in the IIF assay. Epidemiological data such as gender, race, age, access or not to the street and eating behavior were assessed. These parameters were statistically analyzed to measure the influence on test results. The co-positive and co-negative values amounted to 56 and 90% for the IHA test and IIF assay, respectively, yielding an overall agreement of 77.5% and a kappa coefficient of 0.49. The rates obtained by this study are relatively high, leading us to the assumption that these cats, mainly those with free access to the street, could be a source of environmental contamination, due to oocyst shedding, at some time over the course of their lifetime.

Keywords: antibodies against Toxoplasma gondii, cats, IHA, IIF, Porto Alegre

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Endodiogenia: <i>T. gondii</i> formando células-filhas dentro da célula-mãe.	19
Figura 2 – Taquizoítos de <i>T.gondii</i> em macrófago de camundongo: formas em roseta (Giemsa).	19
Figura 3 - Estrutura cística de <i>T.gondii</i> em tecido cardíaco humano.	20
Figura 4 - Cisto de <i>T. gondii</i> - M. E (microscopia eletrônica).	21
Figura 5 - Ciclo Evolutivo do <i>Toxoplasma gondii</i> .	24
Figura 6 – Reação de Imunofluorescência indireta com resultado positivo para anticorpos classe G contra <i>T. gondii</i> em soro felino diluído a 1:16. Observar fluorescência completa de taquizoítos (setas). Aumento de 400X.	47
Figura 7 - Reação de Imunofluorescência indireta com resultado negativo para anticorpos classe G contra <i>T. gondii</i> em soro felino diluído a 1:16. Observar a ausência de fluorescência periférica completa de taquizoítos (seta). Aumento de 400X.	47
Figura 8 - Resultados da Hemaglutinação indireta para <i>T. gondii</i> referentes a machos e fêmeas de gatos domiciliados em Porto Alegre.	49
Figura 9 - Resultados da Reação de Imunofluorescência indireta para <i>T. gondii</i> referentes a machos e fêmeas de gatos domiciliados em Porto Alegre.	53
Figura 10 - Resultados sorológicos positivos encontrados na espécie felina pelas técnicas de HAI e RIFI.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Soroprevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em gatos domésticos nos Estados Unidos.	26
Tabela 2 - Soroprevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em gatos domésticos em vários países.	27
Tabela 3 - Prevalência de anticorpos para <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos domésticos, registrada em diversos inquéritos sorológicos no Brasil.	28
Tabela 4 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de hemaglutinação indireta quanto ao acesso à rua, Porto Alegre, 2007.	49
Tabela 5 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de hemaglutinação indireta em relação à variável raça, Porto Alegre, 2007.	50
Tabela 6 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de hemaglutinação indireta em relação ao tipo de alimentação, Porto Alegre, 2007.	51
Tabela 7 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de hemaglutinação indireta em relação à variável idade, Porto Alegre, 2007.	51
Tabela 8 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela Reação de Imunofluorescência indireta quanto ao acesso à rua, Porto Alegre, 2007.	54
Tabela 9 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de Imunofluorescência indireta em relação à variável raça, Porto Alegre, 2007.	54
Tabela 10 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de Imunofluorescência indireta em relação ao tipo de alimentação, Porto Alegre, 2007.	55
Tabela 11 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para <i>T. gondii</i> pela técnica de Imunofluorescência indireta em relação à variável idade, Porto Alegre, 2007.	56
Tabela 12 - Distribuição dos soros de felinos de acordo com os resultados das técnicas de HAI e RIFI.	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HAI	Hemaglutinação Indireta
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
M. E.	Microscopia Eletrônica
IgA	Imunoglobulina A
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
HIV	Human Immunodeficiency Virus
°C	Grau Celsius
µm	Micrômetro
RNA	Ribonucleic acid
pH	Potencial hidrogeniônico
PCR	Polymerase Chain Reaction
RS	Rio Grande do Sul
EUA	Estados Unidos da América
SNC	Sistema Nervoso Central
VIF	Vírus da Imunodeficiência Felina
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotrasferase
P.A.S.	Periodic Acid Schiff

M.A.T.	Teste de aglutinação modificado
DT	Dye Test
AL	Aglutinação em látex
SF	Sabin-Feldman
h	horas
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
μl	Microlitro
PBS	Solução Tampão de Fosfato
Srd	Sem raça definida
FC	Fixação do complemento
AD	Aglutinação direta
CAP-M	Teste imunoenzimático de captura de anticorpos IgM
MAD	Método de aglutinação direta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivos	15
1.1.1 Gerais	15
1.1.2 Específicos	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Etiologia	16
2.2 Sistemática	17
2.3 Morfologia	18
2.3.1 Taquizoítos	18
2.3.2 Bradizoítos	20
2.3.3 Esporozoítos	21
2.4 Ciclo Evolutivo	21
2.4.1 Ciclo extra-intestinal	22
2.4.2 Ciclo enteroepitelial	23
2.5 Imunologia	25
2.6 Epidemiologia	26
2.7 Patogenia	32
2.8 Sinais Clínicos	34
2.8.1 Sinais Clínicos em felinos e em outros animais	34
2.8.2 Sinais Clínicos em Humanos	35
2.9 Diagnóstico	36
2.9.1 Métodos Diretos de Diagnóstico	36
2.9.2 Métodos Indiretos de Diagnóstico	37
2.9.2.1 Reação de Imunofluorescência Indireta	38
2.9.2.2 Hemaglutinação Indireta	39
2.9.2.3 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	40
2.9.2.4 Exames Complementares	40
2.10 Prevenção e Controle	42

3 MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 Amostras	44
3.2 Questionário Epidemiológico	44
3.3 Técnicas	45
3.3.1. Hemaglutinação Indireta (HAI)	45
3.3.1.1. Procedimento	45
3.3.2. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	45
3.3.2.1 Antígeno	45
3.3.2.2 Procedimento de teste das amostras	46
3.4 Análises Estatísticas	48
4 RESULTADOS	48
4.1 Reação de Hemaglutinação Indireta	48
4.2 Reação de Imunofluorescência Indireta	53
4.3 Comparação entre as técnicas de Hemaglutinação Indireta e Imunofluorescência Indireta	58
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXO I	75
ANEXO II	76
ANEXO III	77

1 INTRODUÇÃO

Nicolle & Manceaux (1908), foram os primeiros pesquisadores a descobrir o protozoário *Toxoplasma* em um roedor denominado *Ctenodactylus gundi*. Outros pesquisadores, no mesmo ano e em anos seguintes, também descreveram este parasito em outras espécies de mamíferos. O nome *Toxoplasma* tem origem grega (toxon= arco e plasma= forma), tendo esta denominação por seu formato de lua crescente (DUBEY & BEATTIE, 1988).

O primeiro relato do parasito em humanos ocorreu com Janku em 1923, que encontrou *T. gondii* na retina de uma criança com hidrocefalia. A patogenia em humanos não tinha sido esclarecida, até que Wolf e Cowen (1937) relataram uma infecção congênita em um homem adulto, porém, a rota de transmissão ainda continuava um mistério. Em 1946, com o teste sorológico desenvolvido por Sabin e Feldman (prova do corante), tornou-se possível associar outras síndromes à toxoplasmose. Hutchison (1967) foi o primeiro a mostrar que os gatos podiam eliminar *T. gondii* pelas fezes e postulou que os parasitos estariam contidos em ovos de ascarídeos do gênero *Toxocara*. Contudo, o *T. gondii* foi definitivamente separado do *Toxocara* e sua infectividade foi relacionada com um pequeno oocisto coccidiano (FRENKEL, DUBEY, MILLER, 1970; DUBEY e BEATTIE, 1988; FRENKEL, 1997).

A toxoplasmose é uma zoonose de grande importância devido aos problemas que causa tanto em animais domésticos como em humanos (APPLEFORD & SMITH, 2000). A ingestão de carne contendo cistos de toxoplasma e alimentos ou água contaminados com oocistos são os principais modos de transmissão do *Toxoplasma gondii* para humanos e animais (DUBEY *et al.*, 1999). Atualmente, segundo Tender *et al.* (2000), os produtos sanguíneos, órgãos para transplante e leite não pasteurizado estão sendo considerados como importantes vias de transmissão do *T. gondii*.

Na década de 90, a soroprevalência de mulheres em idade fértil, em países como Áustria, Bélgica, França, Alemanha e Holanda, foi estimada em 37 a 58%. Em países da América Latina, incluindo a Argentina, Brasil, Cuba, Jamaica e Venezuela, este valor foi mais elevado, variando entre 51-72%. Na Escandinávia, por possuir temperaturas ambientais mais baixas, a prevalência encontrada variou de 11 a 28%. A toxoplasmose é muito significativa em humanos, pois causam mortalidade e morbidade neonatal,

principalmente lesões oculares e alterações cerebrais graves. Nos últimos anos o panorama tornou-se mais severo com o advento da SIDA (Síndrome de Imunodeficiência Adquirida), enfermidade que permite à toxoplasmose causar graves distúrbios (TENDER *et al.*, 2000).

Os felídeos, tendo o gato como representante da espécie doméstica, são importantes no ciclo de vida do *T. gondii*, por serem os únicos hospedeiros que podem contaminar o ambiente com oocistos (DUBEY *et al.*, 2004). Os oocistos são resistentes, mantendo-se viáveis por longo tempo no meio ambiente, constituindo uma fonte permanente de infecção (DUBEY *et al.*, 1999). Os gatos têm por hábito caçar pequenos mamíferos ou pássaros, e estes, muitas vezes, acham-se infectados pelo parasito na forma de cistos teciduais (TENDER *et al.*, 2000).

Os cistos teciduais, encontrados em carnes para consumo humano e animal, são também importantes fontes de infecção. Em animais de produção onde detectaram um maior número de cistos teciduais foram: suínos, ovinos e caprinos; e em menor frequência em frangos. Cistos tissulares raramente foram achados em bovinos (TENDER *et al.*, 2000).

Recentemente, o *T. gondii* foi descrito em vários mamíferos marinhos, sugerindo a contaminação dos oceanos por oocistos. As prevalências encontradas nestes estudos alcançam uma positividade de até 96,8% em golfinhos e 77% em lontras marinhas, podendo ter como hospedeiros de transporte, animais invertebrados marinhos (DUBEY *et al.*, 2003). Moluscos marinhos podem funcionar como fonte potencial de infecção por *Toxoplasma gondii*, pois tanto humanos como animais alimentam-se deles (DUMÈTRE e DARDÉ, 2003).

O estudo foi realizado na cidade de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul. Foram testados e analisados soros de felinos domésticos atendidos em clínicas particulares, de ambos os gêneros, com idades distintas e raças variadas. Nesta cidade não havia dados epidemiológicos suficientes para a toxoplasmose felina, este estudo teve uma importância significativa, pois acrescentou informações nunca antes descritas, sendo o número de felinos adotados no meio urbano muito elevado, propiciando um maior contato entre homem e animal. Houve a colaboração do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (PETLAB).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Gerais:

- Contribuir para o conhecimento sobre a epidemiologia da toxoplasmose no meio urbano de Porto Alegre, RS.

1.1.2 Específicos:

- Avaliar a frequência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de felinos domiciliados na cidade de Porto Alegre, RS.

- Determinar se existe diferença significativa entre as técnicas de RIFI e HAI, nos soros testados.

- Analisar estatisticamente os resultados, estabelecendo a influência das variáveis: gênero, raça, idade, ter acesso ou não à rua e o tipo de alimentação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Etiologia

A toxoplasmose é causada por um parasito, o *Toxoplasma gondii*, que se caracteriza por ser um protozoário coccidiano, sendo seu ciclo evolutivo muito complexo. É considerada uma das zoonoses mais disseminadas no mundo. Seus hospedeiros definitivos são o gato doméstico e várias espécies de felídeos silvestres, no intestino dos quais ocorre o ciclo sexuado do parasito. Estes animais também são hospedeiros intermediários, com um ciclo parasitário tissular, extraentérico e assexuado. Ambos os ciclos podem ocorrer simultaneamente (ACHA e SZYFRES, 1977).

O *Toxoplasma gondii* possui três estágios infectantes: os taquizoítos (em pseudocistos ou livres), os bradizoítos (nos cistos tissulares) e os esporozoítos (nos oocistos) (DUBEY e BEATTIE, 1988).

Os taquizoítos são organismos de multiplicação rápida, encontrados na infecção aguda, também chamados de forma proliferativa e trofozoítos. Eles multiplicam-se por endodiogênias sucessivas em vacúolos intracitoplasmáticos. O seu desenvolvimento ocorre em quase todas as células e tecidos de mamíferos e aves, tornando-os uns dos parasitos de menor especificidade. No ambiente externo, são muito lábeis às temperaturas extremas, à dessecação e à pressão osmótica. Não resistem, também, a ação do suco gástrico, somente se estiverem protegidos por tecidos que parasitam (FREYRE, 1989; FRENKEL, 1997; DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998).

Eles invadem células nucleadas de qualquer tecido, mas parasitam preferencialmente o sistema muscular e nervoso. O número de parasitos por célula pode variar de poucos organismos a vários. Do ponto de vista médico, esta fase é importante, porque o parasito fica vulnerável aos fármacos (ACHA e SZYFRES, 1977).

Taquizoítos de *T. gondii* foram encontrados no leite de vários hospedeiros intermediários, incluindo ovinos, caprinos e bovinos (DUBEY e BEATTIE, 1988). Em humanos a infecção aguda foi associada, somente, ao consumo de leite caprino não pasteurizado (SKINNER *et al.*, 1990).

Os organismos de multiplicação lenta, formadores de cistos no hospedeiro, são denominados de bradizoítos. Estas formas desenvolvem-se durante a infecção crônica em vários tecidos e órgãos como, por exemplo, o cérebro, retina, musculatura esquelética, músculo cardíaco. Sua multiplicação se dá por endodiogênica. Os cistos

persistem nos hospedeiros durante muito tempo, especialmente no tecido cerebral, pois constitui um refúgio especial, possivelmente, por estarem protegidos contra a entrada de anticorpos (ACHA e SZYFRES, 1977; FRENKEL, 1997; DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998). A parede do cisto se dissolve rapidamente quando sofre a ação do suco gástrico, mas os bradizoítos são resistentes, por isso têm uma grande importância na epidemiologia como fonte de infecção (FREYRE, 1989).

Os oocistos são formados após a reprodução sexuada, no intestino dos hospedeiros definitivos. Eles são eliminados junto com as fezes, não esporulados. Após 1-5 dias no meio ambiente apropriado, eles esporulam. Os oocistos esporulados possuem dois esporocistos contendo cada um, quatro esporozoítos. Eles são muito resistentes ao meio ambiente, podendo persistir, em condições ideais, por mais de 18 meses, sobrevivendo por períodos curtos em locais frios ou desérticos (TENDER *et al.*, 2000). Em condições de laboratório, o oocisto esporulado sobrevive a 4°C por 54 meses em água sem nenhuma substância preservativa e entre -5°C e -10°C por 106 dias (DUBEY, 1998c).

2.2 Sistemática

Segundo Levine *et al.* (1985), o gênero *Toxoplasma* tem a seguinte classificação:

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoasida

Subclasse: Coccidiasina

Ordem: Eucoccidiorida

Subordem: Eimeriorina

Família: Sarcocystidae

Gênero: *Toxoplasma*

2.3 Morfologia

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório apresentando três formas distintas:

2.3.1 Taquizoítos

São trofozoítos de proliferação rápida, apresentam-se em formas agrupadas em pseudocistos ou livres nos tecidos e órgãos dos hospedeiros definitivos ou intermediários. São característicos da fase aguda da infecção toxoplásmica, não resistem à digestão gástrica e no meio ambiente sobrevivem por pouco tempo. Ocorrem na lâmina própria das células intestinais, em 1-6 dias pós-infecção. Eles infectam neutrófilos, linfócitos, células linfáticas endoteliais, macrófagos, fibroblastos e ocasionalmente eosinófilos. Sua importância epidemiológica reside no fato desta forma ser transmitida verticalmente, ou seja, no decorrer da gestação, por via transplacentária (LARSSON, 1989; PIZZI, 1997; TENDER *et al*, 2000; SPEER e DUBEY, 2005).

Apresenta uma forma de lua crescente, com o extremo posterior arredondado e o extremo anterior agudo. Suas medidas variam de 2-3 µm de largura por 6-7 µm de comprimento. Na microscopia óptica com coloração de Giemsa, o citoplasma possui coloração azulada (basófilo) pela grande quantidade de RNA e o núcleo apresenta-se avermelhado (acidófilo). Caracterizam-se, também, por serem gram-negativos (PIZZI, 1997).

Na microscopia eletrônica podem-se analisar as seguintes estruturas: parede celular, formadas por três membranas que são interrompidas na região micropilar e na porção mais apical da região anterior (complexo apical); conóide, estrutura cilíndrica constituída por três anéis polares onde se originam 22 microtúbulos de natureza contráctil e responsáveis pelo movimento do parasito, as róptrias e micronemas, que secretam substâncias proteolíticas facilitando a penetração nas células hospedeiras; o núcleo localiza-se na região central com tendência a região posterior; observam-se também a presença do complexo de Golgi, retículo endoplasmático, ribossomos, vacúolos e mitocôndrias (FREYRE, 1989; FRENKEL, 1997). O taquizoíto, após penetrar na célula hospedeira, possui o formato ovóide e é circundado por um vacúolo parasitóforo o qual se deriva do parasito e da célula (FREYRE, 1989).

A multiplicação dos taquizoítos por endodiogenia (Figura 1) destrói a célula hospedeira, produzindo lesões. A gravidade dessas lesões depende da capacidade de

auto-regeneração das células (KAWAZOE, 2000; SPEER e DUBEY, 2005).

A resposta imune através de macrófagos/monócitos (Figura 2) com auxílio de anticorpos específicos das classes IgM e IgG, em um primeiro momento e, a seguir de linfócitos T sensibilizados, tendem a freiar a infecção, fazendo com que os taquizoítos se transformem em bradizoítos, formando cistos teciduais, onde permanecem por toda a vida do hospedeiro (CAMARGO, 1996).

Segundo Lyons, McLeod e Roberts (2002), esta transformação de taquizoíto em bradizoíto e vice-versa, depende da diferença de pH do meio, diferença brusca de temperatura, presença ou ausência de óxido nítrico, inibição mitocondrial e outros fatores.

Após a ingestão, pelo hospedeiro, de esporozoíto ou bradizoíto, estes se convertem em taquizoítos num período de 18 horas (DUBEY, 1998b).

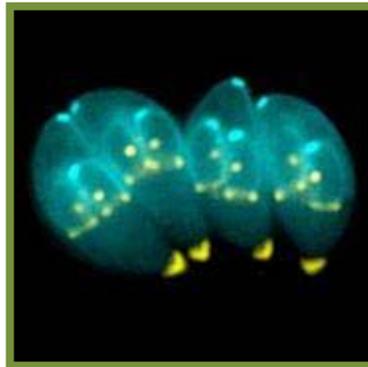


Figura 1 – Endodigenia: *T. gondii* formando células-filhas dentro da célula-mãe.
Fonte: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/39/Toxoplasma_gondii_tachy.jpg/180px-

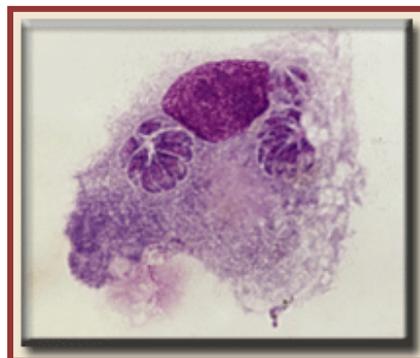


Figura 2 – Taquizoítos de *T. gondii* em macrófago de camundongo: formas em roseta (Giemsa)
Fonte: Dubey J. In: Mandell GL, Bennett JE & Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases 2005. Elsevier. Philadelphia)

2.3.2 Bradizoítos

À medida que se desenvolve a imunidade no hospedeiro, começam a aparecer formas resistentes do parasito denominados bradizoítos ou cistozoítos. Eles localizam-se dentro do vacúolo parasitóforo em uma célula, cuja membrana forma a cápsula do cisto tecidual (Figura 3), tendo como característica a multiplicação lenta, por endodiogenia ou endopoligenia. Os cistos variam de tamanho, podendo ser pequenos com 4 bradizoítos (5 μm de diâmetro) à cistos grandes, medindo aproximadamente 50 μm à 200 μm de diâmetro, contendo centenas de organismos (LARSSON, 1989; DUBEY, LINDSAY E SPEER, 1998; KAWAZOE, 2000).

A cápsula do cisto é resistente e elástica, composta de proteínas que fazem um isolamento dos bradizoítos, impedindo a ação dos mecanismos imunológicos do hospedeiro. Em esfregaços, eles medem cerca de 2 x 7 μm e assemelham-se muito com os taquizoítos. Seu núcleo localiza-se mais posteriormente quando comparado aos taquizoítos, estes tem sua localização mais central. Os bradizoítos resistem à digestão péptica e tríptica (DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998; KAWAZOE, 2000).

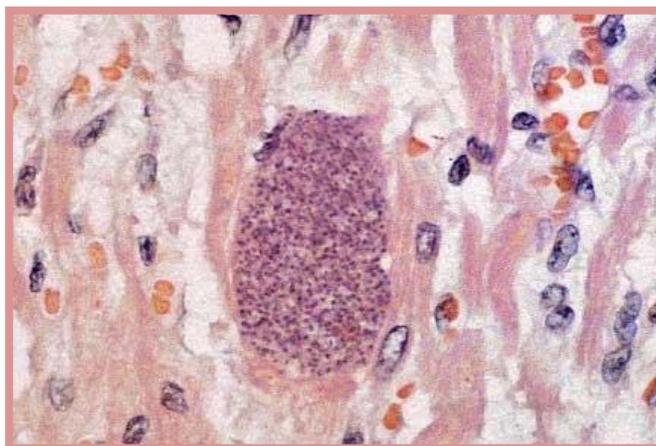


Figura 3 - Estrutura cística de *T. gondii* em tecido cardíaco humano
Fonte: www.conganat.org/.../063/images/figura6.jpg

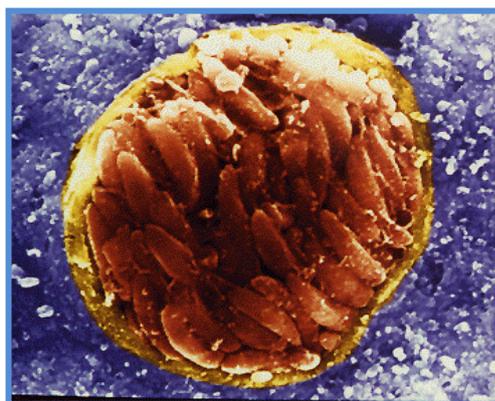


Figura 4 - Cisto de *T. gondii* - M. E. (microscopia eletrônica)

Fonte: <http://www.monografias.com/trabajos16/toxoplasmosis-congenita/toxoplasmosis-congenita.shtml>

2.3.3 Esporozoítos

Os esporozoítos contidos nos oocistos são ultra-estruturalmente similares aos dois estágios mencionados anteriormente. Eles são produzidos nas células intestinais de felídeos não imunes e eliminados imaturos junto com as fezes. Os oocistos desenvolvem-se a partir dos gametócitos, após um ciclo reprodutivo sexuado enteroepitelial (FRENKEL, 1997; KAWAZOE, 2000).

Os oocistos não esporulados são subsféricos a esféricos e medem 10-12 μm de diâmetro. A esporulação ocorre no ambiente, variando de um a cinco dias conforme as condições de aeração e temperatura. Os oocistos esporulados apresentam-se na forma subsférica à elipsoidal e possuem de 11-13 μm de diâmetro. Cada organismo possui dois esporocistos, contendo, cada um, quatro esporozoítos (DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998).

Os oocistos podem permanecer infectantes no meio ambiente por até dois anos, na água corrente podem viver por 20 meses. Resistem ao hipoclorito de sódio a 5% e a ação do formol 1% por seis dias (oocistos maduros). Os oocistos imaturos são mais sensíveis e são destruídos pela dessecação e produtos desinfetantes (PIZZI, 1997). As condições ideais para que esporulem são a uma temperatura de 20°C e a uma umidade de 65% (LINDSAY *et al.*, 1997).

2.4 Ciclo Evolutivo

O *T. gondii* é um parasito com um ciclo evolutivo complexo (Figura 5). Os

felídeos são denominados de hospedeiros completos, pois apresentam o ciclo extra-intestinal ou assexuado e o ciclo enteroepitelial ou sexuado. O homem, mamíferos, répteis, aves e alguns invertebrados são os hospedeiros intermediários ou incompletos, pois neles ocorre somente o ciclo extra-intestinal (FRENKEL, 1997; DUBEY, 2004).

A toxoplasmose além de ser transmitida através das fezes dos felídeos (oocistos), é disseminada pela via transplacentária (taquizoítos) e pelo carnivorismo (cistos) (FREYRE 1989; DUBEY, 2004).

O período pré-patente nos felídeos varia de acordo com o estágio do *T. gondii* que o animal ingere. Menos de 50% dos gatos elimina oocistos depois da ingestão de taquizoítos ou oocistos, enquanto que, quase todos os felinos eliminam oocistos após a ingestão de cistos teciduais (DUBEY e BEATTIE, 1988; DUBEY, 1994; URQUHART *et al*, 1998).

2.4.1 Ciclo extra-intestinal

O desenvolvimento extra-intestinal do *T. gondii* é o mesmo em todos os hospedeiros, incluindo felídeos e o homem. Os hospedeiros intermediários contaminam-se através das três formas do parasito. Após a ingestão das formas infectantes, elas penetram nas células do hospedeiro localizando-se dentro do vacúolo parasitóforo (vacúolo citoplasmático), inicia-se, então, o processo de reprodução assexuada por endodiogenia. A multiplicação é repetida rapidamente, tendo como conseqüência o rompimento das células. Os taquizoítos levados pela corrente sangüínea ou linfática penetram em novas células. Esta fase de multiplicação rápida caracteriza a fase proliferativa do parasito e a fase aguda da doença, em geral aparecendo após os primeiros dias de infecção (5-15 dias) (PIZZI, 1997; NEVES, 2003; FORTES, 2004; DUBEY, 2005).

Os fatores que interferem na duração da fase aguda são: a quantidade de formas infectantes ingeridas, a patogenicidade de cepa, o estado imunitário do hospedeiro (NEVES, 2003).

Na fase crônica há a formação de cistos teciduais, os quais possuem em seu interior bradizoítos. Estes organismos multiplicam-se lentamente por endodiogenia (CAMARGO, 1996; DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998). Alguns bradizoítos convertem-se em taquizoítos, na lâmina própria do intestino delgado, 18 horas após a ingestão dos cistos. Estes taquizoítos migram para os tecidos extra-intestinais, a parasitemia não é detectada até 24 horas pós infecção (GROSS *et al*, 1996; DUBEY,

1998a; BLACK e BOOTHROYD, 2000).

O parasito tem alta afinidade pelo sistema nervoso e muscular. Os cistos localizam-se, predominantemente, no sistema nervoso central, olhos, na musculatura esquelética e cardíaca (TENDER, 2000). Em alguns hospedeiros intermediários, eles permanecem por toda a vida, sem causar nenhuma alteração em sua saúde. Alguns pesquisadores acreditam que os cistos rompem-se, periodicamente, ocorrendo à transformação dos bradizoítos em taquizoítos, estes invadem as células do hospedeiro transformando-se em bradizoítos novamente, tendo uma nova fase de encistamento (DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998).

A localização e o número de cistos teciduais diferem conforme o hospedeiro e o tipo de cepa do parasito. Em camundongos e ratos, são detectados mais cistos no cérebro do que nos tecidos viscerais, na maioria dos mamíferos (bovinos, felinos, ovinos e caprinos) ocorre o inverso, a maioria dos cistos é encontrada nas vísceras e músculos (DUBEY, 1998a).

2.4.2 Ciclo enteroepitelial

O ciclo de vida do *T. gondii* no hospedeiro definitivo caracteriza-se por duas fases distintas: uma fase assexuada ou merogonia, com cinco diferentes formas (A a E) e uma fase sexuada ou gametogonia, que termina com a formação dos oocistos (KAWAZOE, 2000; NEVES, 2003; SPEER e DUBEY, 2005). A ingestão de cistos pelo hospedeiro definitivo caracteriza o fechamento do ciclo evolutivo do parasito. Estes cistos sofrem dissolução pelas enzimas proteolíticas do trato gastrintestinal, liberando os bradizoítos, os quais infectam as células epiteliais do intestino delgado dos felinos (DUBEY, 1994). Alguns parasitos disseminam-se para os tecidos extra-intestinais (DUBEY, 2004). Outras formas que comumente infectam esses hospedeiros são os oocistos, que são capazes de atravessar a barreira gástrica e liberar os esporozoítos no intestino (NEVES, 2003).

Nos felinos, o período pré-patente varia conforme o material infectante. Eles excretam oocistos nas fezes de 3-10 dias após a ingestão de bradizoítos; 18 dias ou mais, depois de ingerirem oocistos esporulados e 11-17 dias após a contaminação com taquizoítos (DUBEY, 2006).

Na merogonia, quaisquer das formas infectantes ingeridas podem penetrar no epitélio intestinal, onde se multiplicam por endodiogenia, seguidas por esquizogonia

(merogonia), produzindo esquizonte maduro ou meronte. As células epiteliais rompem-se liberando os merozoítos e estes penetram em outras células, dando início à formação dos gametócitos e da fase sexuada. O macrogameta (gametócito feminino) e o microgameta (gametócito masculino) unem-se formando o ovo ou zigoto. Ocorre a formação de uma parede dupla, dando origem ao oocisto imaturo (FREYRE, 1989; LARSSON, 1989; NEVES, 2003; DUBEY 2004).

Os oocistos são eliminados com as fezes dos felinos, não esporulados. A esporulação ocorre no meio ambiente entre 1-5 dias, e é dependente da aeração e temperatura ideais (DUBEY e BEATTIE, 1988; FRENKEL, 1997). Eles eliminam oocistos, na primoinfecção, por um período curto, entre três e 15 dias, adquirindo imunidade, cessa a eliminação (DUBEY e THULLIEZ, 1989; NEVES, 2003).

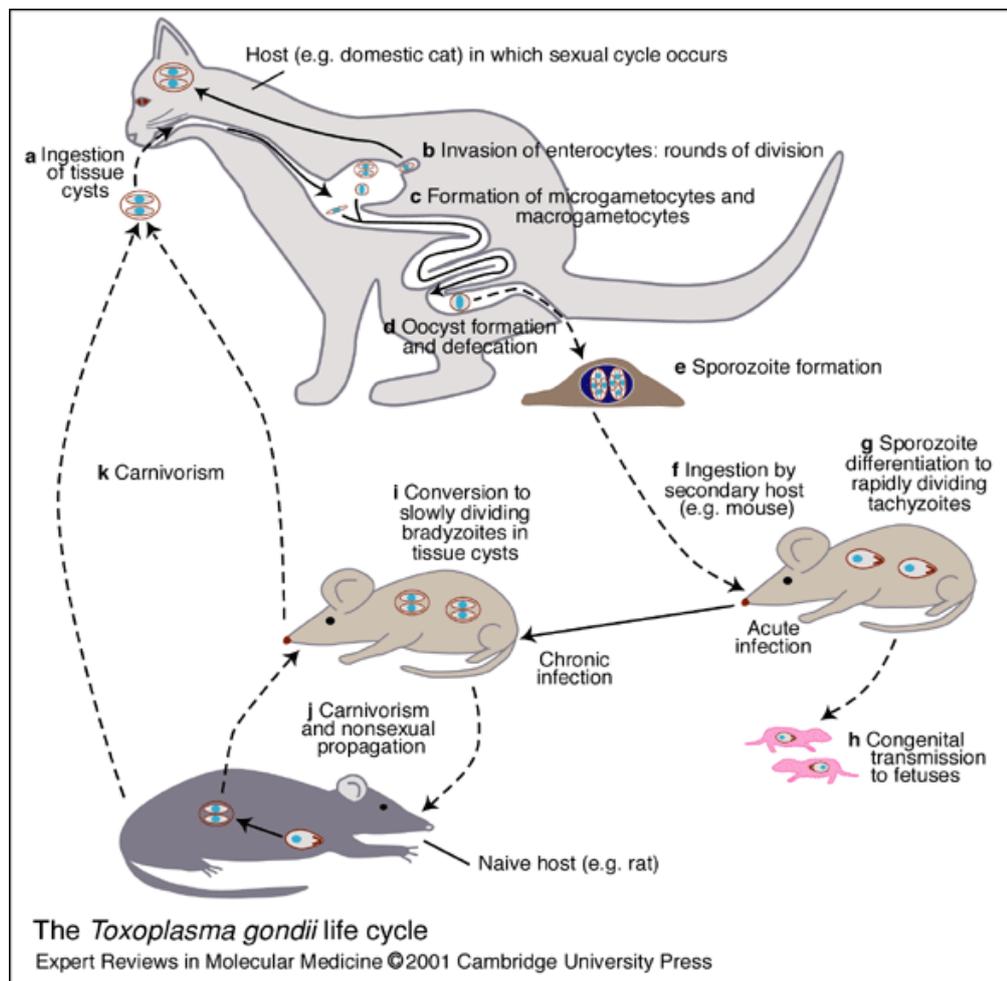


Figura 5 - Ciclo Evolutivo do *Toxoplasma gondii*.
Ajioka et al. (2001)

2.5 Imunologia

O *T. gondii* pode multiplicar-se em várias células de seus hospedeiros. Todas as formas extracelulares do parasito são diretamente afetadas pelos anticorpos, o que não ocorre com as formas intracelulares. Os fatores celulares, incluindo linfócitos e linfocinas, são mais importantes do que os fatores humorais na destruição do *T. gondii* (KAWAZOE, 2000; DUBEY, 2004; LANG, GROB e LÜDER, 2007).

A imunidade inato-inespecífica inclui os macrófagos, polimorfonucleares, monócitos, células citotóxicas naturais (Natural Killer), complemento, lisozimas, proteína C reativa e interferon. A imunidade adquirida-específica caracteriza-se pela presença de linfócitos T, B, e imunoglobulinas (BENVISSUTO, 1997).

As linfocinas são importantes no controle do parasito, assim como o interferon-gama que ativa o macrófago para que ocorra a destruição do *T. gondii* (MACÊDO, 1994; NEVES, 2003). O interferon-gama também inibe o processo alimentar dos taquizoítos, induzindo a diferenciação desses em bradizoítos, e estimula o afluxo de macrófagos e outras células defensivas, mantendo os bradizoítos em latência, permanecendo, o paciente, na fase crônica (NEVES, 2003).

Durante a fase proliferativa, inicia-se a formação de anticorpos específicos e o desenvolvimento de mecanismos imunocelulares. Na fase crônica, somente os bradizoítos ou taquizoítos intracelulares persistem, sendo responsáveis pela manutenção de títulos sorológicos que podem durar por toda a vida dos hospedeiros (KAWAZOE, 2000). Nos mecanismos humorais ocorre, primeiramente, a produção de imunoglobulina M (IgM), que caracteriza a fase aguda da infecção, seguida da produção de imunoglobulina G (IgG). A elevação nos títulos de IgM ocorre por um período curto, sendo que a IgG persiste, com títulos elevados, por um longo período. A infecção por via oral induz a formação de imunoglobulina A (IgA), esta não possui capacidade protetora, são apenas indicadores da doença (CHEMELLO, ECKERT e TEIXEIRA, 1998). Os felinos quando se infectam por ingestão de cistos, soro-convertem (IgG) entre 2 a 5 semanas pós-infecção (TENDER *et al.*, 2000).

A IgM e IgA são macroimunoglobulinas incapazes de atravessar a placenta, razão pela qual são utilizadas para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. Cerca de 8 a 12 dias após a infecção, a IgG pode ser detectada nos testes sorológicos, permanecendo detectáveis enquanto durar a infecção (KAWAZOE 2000; NEVES, 2003).

2.6 Epidemiologia

Os inúmeros inquéritos de prevalência realizados nas diferentes espécies animais nos fornecem uma visão do quanto que a toxoplasmose é disseminada no Brasil e em outros países. Os animais classificados como positivos, com títulos que variam de 1:16 a 1:256, nos vários testes para detecção de anticorpos, são aqueles que em algum momento de sua vida entraram em contato com o *T. gondii*. Em virtude de sua resposta orgânica ou das características de patogenicidade e virulência do agente, ou mesmo da dose infectante, ultrapassaram o quadro da doença clínica, permanecendo apenas com uma “cicatriz” imunológica pelo resto da vida (LARSSON, 1989).

A prevalência sorológica, em gatos, é importante para determinar o significado epidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii*.

Tabela 1 - Soroprevalência de anticorpos para *T. gondii* em gatos domésticos nos Estados Unidos.

Local	Tipo de gatos	nº de gatos	% Soropositivos	Teste Sorológico	Cut-off	Referências
Ohio	Urbano	1000	39	IFI ^a	1:16	Claus <i>et al.</i> (1977)
Ohio	Rural	275	48	MAT ^b	1:25	Dubey <i>et al.</i> (2002)
Iowa	Rural	74	42	MAT	1:32	Smith <i>et al.</i> (1992)
Illinois	Rural	391	68	MAT	1:25	Dubey <i>et al.</i> (1995)
Rhode Island	Urbano	200	42	MAT	1:25	DeFeo <i>et al.</i> (2002)
Iowa	Rural	157	58	DT ^c	1:4	Dubey (1973)
Kansas	Rural	510	16	DT	1:4	Dubey (1973)

aTeste de Imunofluorescência Indireta

bTeste de Aglutinação Modificado

cDye test.

Adaptado de Dubey, 2004

Tabela 2 - Soroprevalência de anticorpos para *T. gondii* em gatos domésticos em vários países.

País	Ano amostra	% Soropositivos	Nº amostras testadas	Método	Referências
Argentina	1993	20	169	HAI	Fernández <i>et al.</i> (1995)
Brasil	1996-97	18	248	IFI	Lucas <i>et al.</i> (1999)
Chile	1992	40	65	HAI	Alcaíno <i>et al.</i> (1992)
França	1997	43	519	IFI	Cabannes <i>et al.</i> (1997)
Alemanha	1990	46	231	IFI	Unberhauen (1991)
Itália	1996	9	113	IFI	Bartoli <i>et al.</i> (1996)
Japão	1998	6	800	AL	Nogami <i>et al.</i> (1998)
México	1999	71	24	ELISA	Galván <i>et al.</i> (1999)
Singapura	1992	7	15	AL	Chong <i>et al.</i> (1993)
Taiwan	1990	8	117	ELISA	Lin <i>et al.</i> (1990)
Turquia	1994	43	65	SF	İnci <i>et al.</i> (1996)

HAI, Hemaglutinação indireta; IFI, Imunofluorescência indireta; AL, Aglutinação em látex; ELISA, Enzime-linked immunosorbent assay; SF, Sabin-Feldman.

Adaptado de Tender *et al.*, 2000

Tabela 3 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos, registrada em diversos inquéritos sorológicos no Brasil.

Localidade	Teste sorológico	Nº animais	% Positivos	Referências
Rio Grande do Sul	HAI	100	24,0	Mendez (1983)
São Paulo	RIFI	27	25,9	Rosa <i>et al.</i> (1987)
São Paulo	RIFI	350	37,7	Camargo <i>et al.</i> (1998)
São Paulo e Paraná	RIFI	191	19,4	Langoni <i>et al.</i> (1998)
Rio Grande do Sul	HAI	100	37	Araujo <i>et al.</i> (2003)
Rio de Janeiro	HAI	41	21,9	Netto <i>et al.</i> (2003)
Paraná	MAT	58	84,4	Dubey <i>et al.</i> (2004)
São Paulo	MAT	237	35,4	Pena <i>et al.</i> (2006)
São Paulo	RIFI	400	25	Bresciani <i>et al.</i> (2007)

HAI, Hemaglutinação indireta; RIFI, Reação de Imunofluorescência indireta; MAT, Teste de aglutinação modificado.

Mendez (1983), em Porto Alegre, RS, observou uma prevalência de 24% de felinos soropositivos para *T. gondii* e Araujo *et al.* (2003), constataram, na mesma cidade, 37% de animais reagentes para este parasito. A prevalência encontrada por Dubey (2002) foi de 48% de positividade para *T. gondii* em felinos, no Estado de Ohio, EUA, sugerindo que o ambiente rural está muito contaminado com oocistos. Garcia *et al.* (1999), observaram uma prevalência, em soros de felinos, de 73% para toxoplasmose, na região rural do município de Jaguapitã, Paraná, Brasil. Lucas *et al.* (1999), no Estado de São Paulo, analisaram 248 soros de felinos e constataram uma soroprevalência de 17,7%, sendo a frequência maior em gatos mais velhos, naqueles alimentados com carne crua e com livre acesso à rua. Os resultados demonstraram que o tipo de alimentação e a manutenção do animal exclusivamente domiciliar ou com livre acesso à rua, são fatores de risco igualmente importantes na ocorrência da infecção toxoplásmica em gatos. Miró *et al.* (2004), demonstraram uma soroprevalência de 32,3% de positivos em 585 soros testados. Encontraram diferença significativa em

gatos de rua e propriedades rurais quando comparados com gatos domiciliados, sendo que os primeiros tiveram uma prevalência mais alta.

Segundo Dubey (2002), os felinos chegam a eliminar cerca de 360 milhões de oocistos em um dia. Powell, Brewer e Lappin (2001), detectaram *T. gondii* no leite de cinco gatos infectados experimentalmente, os métodos utilizados para este resultado foram o PCR e o bioensaio em camundongos.

Os oocistos deste parasito são extremamente resistentes as influências do meio ambiente, podendo esporular e sobreviver na água do mar, por vários meses (LINDSAY *et al.*, 2003). Lindsay, Blagburn e Dubey (2002), constataram que oocistos não esporulados podem ficar viáveis, na temperatura de 4°C, por vários meses.

Animais de criação como bovinos e ovinos contaminam-se, com o parasito, durante os períodos de alimentação com concentrados antes da fecundação ou do parto, sendo as rações armazenadas previamente contaminadas por fezes de felinos, contendo milhões de oocistos. A disseminação de oocistos pode ocorrer através de insetos coprófagos, contaminando verduras, carnes e forragens. A prevalência da infecção é mais alta em veterinários, funcionários de abatedouros e em pessoas que lidam com gatos (ARAÚJO, SILVA e LANGONI, 1998; URQUHART *et al.*, 1998).

O homem infecta-se com o *Toxoplasma gondii* ao ingerir carnes cruas ou insuficientemente cozidas; oocistos esporulados do parasito contidos em alimentos ou água; pela via transplacética; por penetração ativa do protozoário através das mucosas ocular e orofaríngea. O transplante de órgãos pode ser uma via de transmissão, ocasionando, muitas vezes, a toxoplasmose clínica (FREYRE, 1989; DUBEY *et al.*, 1999; HUGHES *et al.*, 2000). As moscas coprófilas e baratas podem atuar com hospedeiros de transporte, para oocistos fecais do gato, contaminando os alimentos (ACHA e SZYFRES, 1977).

Estima-se que 1/3 da população mundial possua anticorpos para o *T.gondii*. Esta taxa aumenta com a idade do individuo, devido à oportunidade maior de adquirir a infecção (HILL e DUBEY, 2002). O Brasil apresenta índices que se encontram entre os mais altos descritos, onde inquéritos sorológicos registrados demonstram uma prevalência variando de 37% a 91% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Nos Estados Unidos e Reino Unido a prevalência estimada é de 16-40%, enquanto que na América Central e do Sul e no continente Europeu, a estimativa é de 50-80% (TENDER *et al.*, 2000; JONES *et al.*, 2001). No município de São Paulo em 2002, constatou-se uma prevalência de 32,4% (110/339) de positividade em crianças entre um e 15 anos, para *T. gondii*, submetidas ao teste de Imunofluorescência Indireta (FRANCISCO *et al.*, 2006).

Heukelbach *et al.* (2007), observaram em Cascavel, Estado de Fortaleza, do total de 231 mulheres grávidas, uma positividade para *Toxoplasma gondii* de 69,7%, com 68% positivas, menores de 25 anos. Carmo *et al.* (2005), no estudo em 11 pacientes adultos de ambos os sexos, encaminhados por oftalmologistas, com diagnóstico clínico de toxoplasmose ocular, ao Instituto Evandro Chagas, Pará, constataram na pesquisa de anticorpos séricos 100% de positividade. Na pesquisa de anticorpos no humor vítreo, seis pacientes apresentaram IgG (66,7%). Em Istambul, Turquia, Tugal-Tutkun *et al.* (2005), obtiveram de 109 pacientes do Departamento de Oftalmologia, uma prevalência sorológica de 100% para *T.gondii* (IgG), destes, todos apresentaram vitrite, 49,5% uveíte anterior e 33% periflebite. Zapata, Reyes e Holst (2005), na Costa Rica, constataram uma prevalência de anticorpos IgG para *T. gondii* de 58% (232/400). Ao analisarem essa soro-positividade por categoria etária, observaram uma tendência a aumentar com a idade, variando de 42,6% para os jovens (19 a 25 anos) até 67,2% para o grupo com idades de 36 a 40 anos. Em relação à condição sócio-econômica, constataram uma positividade mais elevada (67,1%) em indivíduos mais pobres e de procedência da zona rural (62,7%).

A infecção em adultos geralmente é assintomática, no entanto, ocorre doença grave em pessoas imunocomprometidas e recém nascido (DUBEY, 2004). A importância da toxoplasmose, em Saúde Pública, reside sobre tudo na gravidade da infecção congênita e suas seqüelas (ACHA e SZYFRES, 1977). Em pacientes aidéticos de Uganda, África, Lindström *et al.* (2006), detectaram em 130 pessoas, uma prevalência de 54% de positividade para a toxoplasmose. Destes, 93% apresentavam severo-crônica dor de cabeça, sendo também observadas convulsões, paralisias, confusão mental e febre. Seus resultados também mostraram que um em quatro pacientes com neurologia focal sofria de toxoplasmose causada pela reativação do parasito. No Brasil, Barbosa *et al.* (2007), relataram dois casos, em pacientes aidéticos, que apresentaram toxoplasmose aguda como primeira manifestação oportunista da SIDA. Os achados clínicos e laboratoriais foram similares aos de um choque séptico, evoluindo rapidamente para morte. Na necropsia foi observada presença de taquizoítos e cistos de *Toxoplasma gondii* na maioria dos órgãos examinados.

O consumo de carnes mal cozidas de ovinos, suínos, caprinos, frangos e outros animais domésticos e selvagens, é um hábito muito comum, que contribui para a transmissão da infecção toxoplásmica. Mas, atualmente, este consenso está mudando (McALLISTER, 2005). Hall *et al.* (1999), relatam uma alta taxa de prevalência em vários grupos de vegetarianos restritos, sendo a transmissão por oocistos mais comum

do que se imaginava. Contribuindo com estes fatores, um grande surto de toxoplasmose foi detectado, no Canadá, pela distribuição de água municipal, esta se encontrando contaminada por oocistos de *T. gondii* (BOWIE *et al.*, 1997; ISSAC-RENTON *et al.*, 1998). Bahia-Oliveira *et al.* (2003), constataram, em Campos dos Goytacazes, Brasil, num estudo que compreendeu 1436 pessoas, 84% de positividade para toxoplasmose em indivíduos de baixa renda, 62% e 23% de positivos, em indivíduos de classe média e alta, respectivamente. Estes resultados tiveram como causa a contaminação por oocistos da água que abastece a cidade. As pessoas sem recursos financeiros foram as de prevalência mais alta, pois ingeriram água sem tratamento prévio. Entre novembro de 2001 e janeiro de 2002, o Brasil registrou o maior surto de toxoplasmose do mundo, ocorrido no município de Santa Isabel do Ivaí-Paraná. Um total de 462 pessoas apresentou sorologia sugestiva para toxoplasmose (IgM reagente). Dentre os acometidos, sete eram gestantes e destas, seis tiveram seus filhos infectados, ocorrendo uma anomalia congênita grave e um aborto espontâneo. A investigação epidemiológica concluiu que a fonte de contaminação era um dos reservatórios de água da cidade que estava contaminado por fezes de um gato (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O *T. gondii* pode sobreviver em suínos em torno de um ano, mas os cistos, na carne, morrem por salga, cura, cozimento e congelamento. A carne bovina aparentemente não representa uma fonte de infecção, pois os organismos não são isolados comumente do bovino, nos Estados Unidos e em outros países (DUBEY, 1994). Segundo Kotula *et al.* (apud Hill e Dubey 2002), recomendam que a carne de qualquer animal seja cozida no mínimo à 67°C. Os cistos nos tecidos musculares morrem pelo congelamento com a temperatura de -13°C. Na região de Erechim, Rio Grande do Sul, Martins *et al.* (1990), isolaram *Toxoplasma gondii* de carnes e derivados, encontrando uma positividade de 4,6%, em 108 amostras. A carne suína teve uma maior prevalência quando comparada à bovina. Mendonça (2003), em Botucatu-São Paulo constatou que a lingüiça suína frescal, provavelmente, tem pouca importância como fonte de infecção para a toxoplasmose humana, na região estudada. No entanto, o elevado índice de amostras positivas na reação de PCR demonstrou que o parasito pode estar presente, porém é inviabilizado pela ação do sal adicionado ao tempero das lingüiças.

Estudos sugerem, entretanto, que as carnes embutidas (principalmente em forma de salsichas) representam importante via de transmissão na Costa Rica. A utilização de métodos inadequados para o processamento das carnes pode ser responsável por essas prevalências (ARIAS *et al.* apud MARTINS e VIANA, 1998). Em um estudo feito em

Londres por Warnekulasuriya, Johnson e Holliman (1998), concluíram que a contaminação de produtos curados, como por exemplo, presuntos e lingüiças, são de risco importante na infecção humana para toxoplasmose. Eles afirmam que a quantidade adequada de sal, nestes produtos, é suficiente para eliminar o *T. gondii*, contudo, através de seus resultados, demonstraram que houve uma amostra positiva do total de 67, sendo este valor muito significativo para uma futura contaminação humana. Em Londrina, Paraná, Dias *et al.* (2005), encontraram uma prevalência de 8,7% (13/149) de positividade para *T. gondii*, em lingüiças tipo frescal suínas e 59,5% (28/47) de positivos, em trabalhadores do frigorífico. Destes, 55,5% (20/36), trabalhavam no processamento das lingüiças. Os resultados permitem inferir que lingüiças tipo frescal possuem importância na cadeia epidemiológica da toxoplasmose neste município.

O leite de cabra *in natura*, também foi relacionado com casos de toxoplasmose humana, sendo uma potencialmente fonte de infecção (SKINNER *et al.*, 1990; DUBEY, 1994; TENDER *et al.*, 2000).

2.7 Patogenia

A patogenicidade do *T. gondii* é determinada por vários fatores, incluindo a suscetibilidade da espécie hospedeira, virulência da cepa e estágio do parasito (KAWAZOE, 2000; NEVES, 2003; DUBEY, 2004). A patogenicidade da toxoplasmose humana depende muito da virulência da cepa, sendo que *T. gondii* oriundo de casos humanos e inoculados em animais de laboratório comprova o fato que há cepas que matam os animais (camundongo, hamsters, ratos, coelhos) em poucos dias; outras apenas provocam emagrecimento, anemia, queda de pêlos e com posterior restabelecimento do animal (KAWAZOE, 2000).

A destruição das células parasitadas pelos taquizoítos é o primeiro mecanismo a produzir lesões. Os tecidos lesados são, especialmente, cerebral, ocular e muscular. A reação inflamatória caracteriza-se por linfócitos, monócitos e macrófagos, algumas vezes plasmócitos. A necrose tecidual que se segue à ruptura de cistos geralmente ocorre durante a infecção crônica, na presença de imunidade e hipersensibilidade tardia. A ruptura dos cistos no fígado ou tecido linfóide pode ter pouca importância, pois a regeneração celular nesses órgãos é muito eficiente (FRENKEL, 1997).

A retinocoroidite é uma lesão freqüente na toxoplasmose congênita. A retina torna-se inflamada e necrótica e a camada pigmentada rompe-se por infiltração de células inflamatórias formando um tecido de granulação que invade o humor vítreo

(URQUHART *et al.*, 1998). O enfarte é um importante mecanismo patogénico de lesão cerebral em pacientes com SIDA. Os taquizoítos espalham-se ao longo das arteríolas, provocando proliferação das paredes, trombose e enfarto (FRENKEL, 1997). A frequência da transmissão no útero está relacionada ao desenvolvimento da placenta e aumenta durante o curso da gravidez. No entanto, a doença fetal é mais grave se a transmissão ocorre nos primeiros três meses da gestação. O feto contamina-se com taquizoíto transmitidos através da placenta. Eles multiplicam-se ativamente, podendo ocorrer a toxoplasmose disseminada, geralmente fatal. São formados também, cistos, produzindo várias lesões no SNC. Na infecção congênita a necrose periductal e periventricular leva à obstrução do aqueduto de Silvius ou do forâmen de Monro, tendo como consequência a hidrocefalia obstrutiva. A calcificação pode ser o processo final para as áreas de necrose cerebral. A linfadenite toxoplásmica caracteriza-se pela hiperplasia folicular reativa com aglomerados de histiócitos epitelióides. Os taquizoítos são raramente encontrados nos linfonódos (REMINGTON e DESMONTS, 1990).

As lesões macroscópicas mais frequentes, em felinos, são os focos de necrose hepática, congestão, edema e consolidação pulmonar, hipertrofia dos gânglios linfáticos mesentéricos e brônquicos. Em 10% dos casos existe esplenomegalia, focos de necrose pancreática, fluidos pericárdicos e peritoniais, úlceras duodenais. Na histopatologia dos pulmões pode-se revelar pneumonia intersticial com exsudato fibrinoso, ocorre a acumulação de fibrina e macrófagos. No cérebro há o aparecimento de vasculite, focos de necrose e infiltrado mononuclear. A toxoplasmose ocular revela corioretinite focal, irite, desprendimento retiniano e hemorragias retinianas (FREYRE, 1989).

2.8 Sinais Clínicos

2.8.1 Sinais Clínicos em felinos e em outros animais

Os gatos raramente desenvolvem sinais clínicos de problemas gastrintestinais durante o ciclo enteroepitelial. O ciclo extraintestinal produz sinais clínicos mais comumente (LAPPIN, 1994). Podemos observar enterite, linfonodos mesentéricos dilatados, pneumonia, encefalite, vômitos, febre, comprometimento do miocárdio, irite, uveíte anterior e posterior, retinocoroidite, icterícia, anemia e aborto. A transmissão congênita pode ocorrer após a ativação de cistos durante a prenhez (FREYRE, 1989; ARAÚJO, SILVA e LANGONI, 1998). Os filhotes com infecção transplacentária desenvolvem os sinais clínicos mais severos e geralmente morrem da enfermidade. Eles apresentam, também, um aumento do volume abdominal em consequência da esplenomegalia e ascite. Em estudos experimentais, gatos foram infectados com o *T. gondii* e com o vírus da Imunodeficiência felina (VIF), eles apresentaram severa pneumonia e hepatite, ao passo que aqueles não infectados com a VIF, desenvolveram corioretinite multifocal e uveíte anterior (DUBEY, 2005). Em alguns gatos recém nascidos tem-se observado a toxoplasmose multifocal, que geralmente é consequência desta infecção (LAPPIN, 1994). A toxoplasmose aguda pós-natal pode desenvolver-se em indivíduos aparentemente normais com a ingestão de grande número de oocistos esporulados ou bradizoítos, levando à doença clínica. A inflamação hepática pode estar associada à dor abdominal anterior e efusão peritonial, geralmente associada a vômito, diarreia e inapetência, os animais podem tornar-se ictéricos devido à necrose hepática, enquanto que a toxoplasmose pós-natal crônica causa mais comumente sinais oculares e neurológicos, raramente provoca envolvimento hepático primário. Lesões oculares são comuns em gatos, principalmente a uveíte, mas é difícil reconhecer o parasito como causa da mesma, a uveíte é mais usual em gatos com a toxoplasmose sistêmica (ARAÚJO, SILVA e LANGONI, 1998; DAVIDSON, 2000). Em cães os sintomas se apresentam por febre, letargia, anorexia, diarreia, pneumonia e manifestações neurológicas. Em ruminantes a toxoplasmose está associada com aborto em ovelhas e cabras, com mortalidade perinatal em cordeiros, causando perdas econômicas significativas (DUBEY, 1994; URQUHART *et al.*, 1998). Em suínos, quando a infecção é adquirida na prenhez, os sintomas são natimortos e leitões com

comprometimento pulmonar e nervoso, morrendo a grande maioria em poucos dias. Na infecção pós-natal a sintomatologia é de pneumonia e diarreia podendo levar a óbito (FREYRE, 1989). Tem-se relatado ocasionalmente toxoplasmose em aves, enquanto há registros de títulos sorológicos em eqüinos e coelhos silvestres (URQUHART *et al.*, 1998).

2.8.2 Sinais Clínicos em Humanos

A toxoplasmose congênita é uma doença que requer uma atenção especial, pois podem ocorrer lesões irreversíveis no feto. É importante salientar que mais da metade das mães que adquirem a doença durante a gravidez (primo-infecção) geram filhos normais. Quando a gestação está entre a concepção e a sexta semana, costuma ocorrer aborto. Da sexta semana até a décima sexta, a criança pode não se infectar e nascer normal, porém se ocorrer a infecção, é o período em que o feto apresenta as mais graves alterações. Há o aparecimento de hepatoesplenomegalia, icterícia, linfadenopatia generalizada, erupções cutâneas, edemas musculares e derrames cavitários, miocardite, pneumonite, hidrocefalia, meningoencefalite, micro ou macrocefalia, calcificações cerebrais, retardamento mental e coriorretinite (essas últimas quatro alterações compõe a tétrede de Sabin) (PIZZI, 1997; NEVES, 2003). A hidrocefalia é uma manifestação clínica menos comum, mas é a mais dramática lesão da toxoplasmose, sendo esta condição somente adquirida por humanos, não acontecendo em nenhum outro animal (DUBEY, 2004). No segundo trimestre de gestação, além das lesões citadas anteriormente, pode haver a morte de 40-50% dos fetos e grande número de prematuridade. A infecção ocorrendo no terço final da gestação, a criança pode nascer normal, apresentando sinais da doença semanas ou meses após o parto (NEVES, 2003). A criança pode apresentar pneumonia, miocardite, hepatite, anemia, trombocitopenia, retinocoroidite e pouco peso (FRENKEL, 1997). As lesões oculares são típicas, com invasão da retina e da coróide por taquizoítos, estes determinam um processo infeccioso e degenerativo. Essas manifestações oculares podem aparecer em qualquer idade do paciente, decorrentes da reagudização de cistos localizados na retina (NEVES, 2003).

A toxoplasmose pós-natal é geralmente menos grave, visto que a maioria das infecções é assintomática em decorrência da efetividade do sistema imunológico (CHEMELLO, ECKERT e TEIXEIRA, 1998). Os achados comuns são prematuridade, baixo peso, coriorretinite, estrabismo, icterícia e hepatomegalia. A presença de

anticorpos toxoplásmicos no recém nascido não é evidência de infecção, visto que a IgG materna atravessa a placenta. A vida média da IgG passivamente transferida é de um mês, e cerca de três meses são necessários para que ocorra uma queda de titulação de anticorpos, podendo estes persistirem por até um ano. O diagnóstico deve ser baseado na detecção de IgM e IgA, as quais refletem a produção de anticorpos do recém-nascido (FRENKEL, 1997).

A linfadenite é o sintoma clínico mais comumente observado em adultos e crianças, ela pode vir associada com febre, fadiga, dor muscular, dor de garganta e cabeça, geralmente é de curso crônico e benigno, podendo às vezes levar a complicações de outros órgãos (KAWAZOE, 2000; HILL e DUBEY, 2002; DUBEY, 2004).

As pessoas imunodeficientes desenvolvem uma doença multiforme, gravíssima ou fatal. Essa doença pode ser decorrente de uma infecção aguda ou a reagudização da infecção crônica. Em pacientes com SIDA as lesões oculares podem estar associadas a uma necrose difusa da retina, com leve inflamação e grande número de parasitos. As lesões podem evoluir para uma cegueira parcial ou total ou podem curar-se por cicatrização. Cistos teciduais podem estar presentes na borda da cicatriz. O parasito alcança a retina através da corrente sanguínea na forma de taquizoítos (KAWAZOE, 2000).

Nos pacientes com SIDA, destaca-se a encefalite aguda toxoplásmica como uma das infecções mais importantes do sistema nervoso central com manifestações de letargia, confusão mental, perda de memória, alucinações, incoordenação motora, convulsão, coma e morte (DUBEY, 1994; MACÊDO, 1994; NEVES, 2003; HOFFMANN *et al.*, 2007).

2.9 Diagnóstico

2.9.1 Métodos Diretos

Estes métodos incluem a identificação de oocistos nas fezes de felinos ou no meio ambiente, e a identificação de taquizoítos ou cistos em tecidos e fluídos corporais dos hospedeiros.

Segundo Lappin (1994), os oocistos de *T. gondii* não podem ser diferenciados, pela microscopia óptica, de *Hammondia hammondi* e de *Besnoitia darlingi*, que são coccídios não patogênicos que parasitam os gatos.

A inoculação experimental em ratos permite a diferenciação entre o *T. gondii* e *Hammondia hammondi*. Os cistos de *H. hammondi* se formam principalmente na musculatura e de *Toxoplasmas*, no cérebro. Ambos são detectáveis em quatro semanas pós-inoculação (FREYRE, 1989).

Para demonstrar e identificar oocistos de *T. gondii*, o material fecal de gatos ou de solo é submetido a técnicas de flutuação em soluções hipertônicas como as de sucrose, zinco ou cloreto de sódio. A esporulação dos oocistos é realizada em ácido sulfúrico a 2% e exposição ao oxigênio à temperatura ambiente. Ela é completada em um a três dias, sendo posteriormente neutralizada. Esta suspensão é neutralizada e injetada diretamente nos camundongos, por via intraperitoneal. O diagnóstico é feito pela demonstração do parasito no líquido peritoneal, pelo desenvolvimento de anticorpos nos camundongos após duas a três semanas, ou pela demonstração de cistos um mês após a infecção (FRENKEL, 1997).

O parasito pode ser isolado de sangue, fluidos do corpo, tecidos inoculando-se material na cavidade peritoneal de camundongos ou em cultura de tecidos, com a posterior demonstração dos taquizoítos em cortes de tecidos (biópsias) ou em esfregaços (aspirado de medula, lavagem brônquica) ou fluidos do corpo (líquor, líquido amniótico). Os cistos podem ser identificados na placenta ou nos tecidos dos recém-nascidos permitindo o diagnóstico da infecção congênita. Em cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina ou Giemsa, o aspecto de meia lua, característico dos taquizoítos, se perde e observa-se uma forma redonda ou oval. Os cistos toxoplásmicos são mais típicos nos tecidos, podendo ser corados pelo P.A.S. (Periodic Acid Schiff), resaltando sua coloração vermelha (FREYRE, 1989; MACÊDO, 1994). A utilização de técnicas de imunohistoquímica, como a da peroxidase-anti-peroxidase e da streptavidina-peroxidase, identificam de forma muito sensível e específica os parasitos nos cortes histopatológicos (ARAÚJO, SILVA e LANGONI, 1998).

2.9.2 Métodos Indiretos

Os métodos sorológicos são os mais utilizados no diagnóstico para *Toxoplasma gondii*, sendo na maioria das vezes baseado na identificação de IgG específica. A soro conversão ocorre após duas a quatro semanas da infecção, com o pico ocorrendo nas

quatro a seis semanas posteriores. Os títulos se mantêm com níveis altos durante meses a anos. Para detectar uma infecção recente é necessário verificar um aumento contínuo por um período de duas a quatro semanas. Segundo Sherding (1998), um único título alto de anticorpos anti-*Toxoplasma* IgG séricos não é diagnóstico de infecção ativa, não importando quão alto seja o nível do título. Um só título de IgM é usualmente adequado para demonstrar uma infecção recente ou reativada (ARAÚJO, SILVA e LANGONI, 1998; SHERDING, 1998). Os métodos mais utilizados em humanos, atualmente, são RIFI e ELISA (CHEMELLO, ECKERT e TEIXEIRA, 1998; KAWAZOE, 2000). Outros métodos de diagnósticos, tanto para humanos quanto para animais, são citados na literatura, como por exemplo, Sabin-Feldman, Hemaglutinação direta e indireta, Hemaglutinação em látex e Imunoblot (KAWAZOE, 2000; HILL e DUBEY, 2002). Para o diagnóstico sorológico é indicado à realização de mais de uma reação sorológica (MACÊDO, 1994).

Em humanos, a triagem sorológica na gestante deve incluir a detecção de anticorpos da classe IgG, marcadores de imunidade ao parasito e de anticorpos da classe IgM, marcadores de infecção aguda. No recém-nascido, anticorpos da classe IgG específicos podem representar anticorpos maternos de transferência passiva que, na criança não infectada, desaparecem progressivamente até a negatificação ao longo do primeiro ano de vida, ocasionalmente até os 18 meses. A detecção de anticorpos da classe IgM no recém-nascido é sinal de infecção congênita, já que a IgM não cruza a placenta. Se o resultado reagente for obtido nos primeiros 7-10 dias de vida, deve ser confirmado posteriormente para excluir resultados falso-positivos representados por IgM de transmissão passiva na ocorrência de placentite (CAMARGO, 1996).

2.9.2.1 Reação de Imunofluorescência Indireta

Este método foi introduzido por Goldman em 1957 (GOLDMAN apud FREYRE, 1989). O diagnóstico de toxoplasmose em animais, pela imunofluorescência ocorreu apenas em 1964, quando Ito e colaboradores utilizaram testes diretos dessa reação (CORRÊA, SALATA e OLIVEIRA, 1978). Dois dos testes mais comumente utilizados medem anticorpos, o teste do corante de Sabin-Feldman e o teste de anticorpos por imunofluorescência indireta, sendo este último preferível, pois não requer organismos vivos (URQUHART *et al.*, 1998). Neste teste, os taquizoítos de

Toxoplasma gondii inteiros são fixados em lâminas próprias para este fim. Posteriormente, captam em sua superfície os anticorpos contidos no soro problema. Os parasitos são submetidos à ação de globulinas anti-globulinas da espécie animal em questão, marcadas com fluorocromo, os quais reagem com os anticorpos fixados na superfície dos taquizoítos. Estes, ao serem iluminados com luz ultravioleta, emitem colorações diferentes que dependem do fluorocromo utilizado (FREYRE, 1989). São utilizadas principalmente a fluoresceína: fluorescência de cor verde-amarelada; e a rodamina: fluorescência laranja-avermelhada (JORGE, 2006). A leitura é realizada em microscópio de imunofluorescência, no qual a reação positiva caracteriza-se pela coloração esverdeada dos taquizoítos, e quando negativa por uma coloração avermelhada (NEVES, 2003).

Segundo Kawazoe (2000), é um dos melhores métodos de diagnóstico para a toxoplasmose, sendo sensível e seguro, podendo ser usado tanto na fase aguda (pesquisa de IgM) como na fase crônica (pesquisa de IgG). Oito a dez dias após o início da infecção humana, o anticorpo (IgM) pode ser detectável e um título de 1:1.000 já indica toxoplasmose aguda. Esses títulos podem permanecer elevados por 20 a 30 dias, reduzindo-se gradativamente após alguns meses. Títulos baixos, persistentes, entre 1:10 e 1:500 indicam infecção crônica. A sensibilidade do método chega a acusar positividade em títulos de 1:16.000.

As suas desvantagens devem-se ao fato de requerer equipamento especial de custo elevado e por necessitar de um conjunto anti-gama-globulina específico para cada espécie animal (LARSSON, 1989).

2.9.2.2 Hemaglutinação Indireta

Jacobs *et al.* (1957), aplicaram este método na sorologia da toxoplasmose. Os eritrócitos tratados com substâncias específicas captam antígenos toxoplásmicos. Posteriormente, em presença do soro suspeito que contenha o anticorpo específico, se aglutinam formando uma malha visível no fundo do poço, não possuindo estes anticorpos, ocorre a sedimentação, formando um pequeno botão (FREYRE, 1989). A reação de hemaglutinação indireta mede anticorpos que tem seu aumento mais tardiamente, no curso da infecção, e persistem por anos. Devido ao aparecimento tardio dos títulos de anticorpos na HAI, esta reação tem pouca utilidade clínica e não deve ser utilizada como *screening* para identificar gestante que pode ter adquirido a infecção no início da gravidez (MACÊDO, 1994).

Segundo Blood e Radostist (1991), o teste de HAI para *T. gondii* possui pouca especificidade. Porém, segundo Dubey e Thulliez (1989), é um teste fácil de ser realizado, não requerendo equipamentos especiais e pode ser usado em várias espécies animais porque não há a necessidade de reagentes espécie-específico, sendo utilizado muito freqüentemente na Medicina Veterinária.

Apresenta a vantagem de dispensar o emprego de antígenos vivos, serem passível de armazenamento em refrigeração por muito tempo, prática e sem riscos de acidentes para o laboratorista (LARSSON, 1989).

2.9.2.3 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

A sensibilidade e especificidade são muito elevadas, tornando-se um teste muito empregado pelos laboratórios (NEVES, 2003). Hill *et al.* (2006), em estudo comparativo de vários testes sorológicos, observaram que o ELISA indireto foi o que obteve o maior grau de sensibilidade. Este teste é capaz de detectar uma infecção recente pela estimativa de anticorpos IgM, quando comparados com a IgG (URQUHART *et al.*, 1998). O antígeno lisado é adsorvido às paredes de tubos de ensaio plásticos ou das cavidades das placas de microtitulação, são conservadas no congelador para posterior uso. Para se realizar o teste, adiciona-se o soro suspeito, os anticorpos irão se aderir, se presentes, ao antígeno. A antiglobulina ligada a uma enzima (fosfatase alcalina, peroxidase), é adicionada ligando-se ao anticorpo. A seguir, adiciona-se um substrato que é hidrolisado quando a enzima permanece, apresentando uma cor visível na parede do tubo. A cor pode ser detectada visualmente ou lida em um colorímetro. As vantagens do ELISA são a permanência da cor da reação, sua sensibilidade, adequação à leitura automatizada. Suas desvantagens são sua maior complexidade e os problemas referentes à purificação e padronização dos vários reagentes (FRENKEL, 1997).

2.9.2.4 Exames Complementares

Em hemogramas de cães e gatos com toxoplasmose aguda, encontramos uma anemia não regenerativa, leucocitose neutrofílica, linfocitose, monocitose e eosinofilia. O exame bioquímico nos revela, durante a fase aguda, hipoproteïnemia e hipoalbuminemia. A hiperglobulinemia pode ser observada em gatos com a doença crônica. As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST)

tem um marcante aumento em animais com hepatite aguda e necrose muscular, assim como, a bilirrubina sérica tem seus níveis aumentados com o desenvolvimento, especialmente em gatos, da colangiohepatite ou lipidose hepática (DUBEY, 2005).

O Raio-X, é um exame que pode, apenas, nos levar a uma suspeita da doença. Podemos encontrar lesões compatíveis de acordo com o órgão afetado, como padrão intersticial difuso ou alveolar no pulmão, derrame pleural, derrame peritonal, aumento do fígado e linfonódos mesentéricos, presença de massas intestinais e, em alguns casos, pancreatite (LAPPIN, 1994; SHERDING, 1998; DUBEY, 2005).

2.10 Prevenção e Controle

Mulheres grávidas devem evitar o contato com fezes de felinos e com o solo, não devendo, também, consumir carnes mal cozidas. As fezes dos gatos devem ser recolhidas todos os dias; o uso de luvas para manipulação de jardins e a lavagem adequada dos vegetais, são meios de prevenir as contaminações por oocistos de *T. gondii*. As pessoas não devem tomar água não-filtrada de lagos, poços e rios. O acesso de gatos em reservatórios de água deve ser impedido (DUBEY, 2004). Os gatos deverão receber alimentos comerciais balanceados ao invés de carnes cruas e víceras, como o fígado, que alguns proprietários fornecem por ser fonte de vitaminas A, esta prática deve ser desestimulada (DUBEY, 1994; NAVARRO, 2001). Segundo Sherding (1998), os felinos não devem ingerir leite cru (não pasteurizado), especialmente proveniente de caprinos; não permitir que tenham acesso a lugares onde possam caçar camundongos e aves e impedir a entrada em lugares onde são armazenados alimentos para animais de produção.

Areia e solo contaminados por fezes de gato representam fontes duradouras de infecção, sendo de difícil erradicação. A tendência dos gatos em defecar perto de seus habitat naturais aumenta a concentração de oocistos nos quintais e depósitos de areia próximos às casas. O hábito dos felinos de cobrir suas fezes aumenta a sobrevivência dos oocistos, já que a umidade é maior sob a terra do que na sua superfície. Os tanques de areia das crianças devem ser cobertos para a proteção de uma eventual contaminação por fezes de felinos. O controle de moscas e baratas de ser observado, pois elas servem de vetores mecânicos para oocistos. Para uma desinfecção em ambientes contaminados com oocistos o uso de água fervente e o calor seco são os únicos meios eficientes, rápidos e fáceis de eliminar esses oocistos (FRENKEL, 1997; SHERDING, 1998; NAVARRO, 2001).

Os alimentos, como carnes, contaminados pelo *T. gondii*, devem sofrer cozimento até que sua temperatura interna atinja 67°C, ou ser armazenada à -12°C. O congelamento de carnes por um dia em -12°C seria o suficiente para inativar os cistos presentes (DUBEY, 1996; DUBEY, 2004). Deve-se evitar provar o tempero das carnes que estão sendo manufaturadas, como por exemplo, lingüiças, isso pode contribuir para uma contaminação toxoplásmica da pessoa que faz o procedimento (DUBEY, 1994). Embutidos frescais devem ser salgados com 2,5% de sal por 48 h, antes de serem consumidos (NAVARRO, 2001). Segundo Ludén e Ugglá (1992), o cozimento de carnes no microondas não elimina o *T. gondii* porque seu cozimento é desigual.

Dubey (1996) nos relata que os efeitos da radiação gama nas carnes eliminam os cistos, não interferindo no sabor ou qualidade do produto.

Estratégias para redução da disseminação do *T. gondii* inclui vacinação e diferentes práticas de manejo. Os objetivos do uso de vacinas para toxoplasmose são a redução das lesões fetais, a redução do número de cistos nos tecidos animais e a prevenção da formação de oocistos nos gatos (DUBEY, 1996). Parmley, Slifer e Araujo (2002), relatam que muitas vacinas vivas atenuadas com cepas de *T. gondii* têm sido desenvolvidas para serem utilizadas em gatos, suínos e ovinos, contudo uma vacina recombinante seria mais segura e eficiente. Os melhores antígenos para vacinas seriam os de superfície e os secretores, pois são os melhores alvos da resposta imune em infecção natural.

Atualmente, segundo McAllister (2005), existe uma vacina comercializada em alguns países da Europa e na Nova Zelândia, a qual é usada para a prevenção de aborto em ovelhas. Por ser uma vacina viva atenuada, não induz a formação de cistos na carne que será usada para consumo. Ela é capaz, também, de reduzir a infecção dos ovinos, que em pastejo livre são expostos à contaminação por oocistos. Se a vacina for usada com este fim, os filhotes (machos e fêmeas) deverão ser vacinados ao nascimento.

Montoya e Liesenfeld (2004) comentam que uma vacina humana contra a toxoplasmose é muito desejável, porém, ainda está longe da realidade. Em algumas pesquisas que estão sendo realizadas, o objetivo é de induzir à proteção por linfócito T (Th1) e por respostas humorais, para que a imunidade dure por toda vida; hoje isso só ocorre, quando existe a infecção natural.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras:

A amostragem foi do tipo parcialmente randômica, de acordo com Thrusfield (2004), para uma expectativa de prevalência de 20%, com uma precisão absoluta de 5%, com um nível de confiança de 95%, totalizando uma amostragem de 245 felinos. Eles foram estratificados por gênero, raça, tipo de alimentação, acesso ou não à rua e idade.

As colheitas foram realizadas no período de abril de 2006 a março de 2007, e os exames de abril a agosto de 2007.

As amostras, obtidas por veterinários particulares através da punção das veias jugular e cefálica, foram colocadas em tubos para hemograma sem EDTA e enviadas para o Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (PETLAB). No laboratório, foram catalogadas e anexados seus respectivos questionários epidemiológicos. Os soros foram devidamente separados do sangue total e divididos em três alíquotas. Elas foram armazenadas em tubos (Eppendorf), identificadas e transferidas para o Laboratório de Protozoologia (PROTOLAB), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sendo transportadas em isopor com gelo e armazenadas a -20°C para posterior análise sorológica.

Os exames foram realizados no Laboratório de Protozoologia da Faculdade de Medicina Veterinária e no Laboratório de Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS.

3.2 Questionário Epidemiológico:

O questionário epidemiológico (Anexo III) continha perguntas referentes à idade, gênero, raça, tipo de alimentação dos felinos e, se os mesmos tinham ou não acesso à rua. As respostas foram obtidas através da aplicação do inquérito epidemiológico aos veterinários que atenderam os felinos em suas respectivas clínicas. Esses questionários foram catalogados, conforme a numeração do soro correspondente, para posterior análise.

3.3 Técnicas:

3.3.1. Hemaglutinação Indireta (HAI)

Utilizou-se o Kit comercial Imuno-HAI TOXO¹, para determinação qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos para *T. gondii* por Hemaglutinação Indireta.

3.3.1.1. Procedimento:

Em placa de microtitulação colocou-se 25µl de diluente do soro, em todos os poços. Após, foram colocados 25µl do controle positivo no poço um da fileira A e 25µl do controle negativo no poço um da fileira B. Nas fileiras de C a H, foram colocados 25µl dos soros dos felinos a serem testados. Para realizar a diluição, foi passado 25µl do primeiro poço para os seguintes, sucessivamente. Adicionou-se 25µl de suspensão de hemácias (aves) sensibilizadas com componentes do *T. gondii*, nas cavidades referentes à diluição de 1:64. As placas foram incubadas à 37°C, por uma hora e após este período, realizou-se a leitura, considerando-se positivas aquelas que apresentavam um manto e negativas as que possuíam um botão no fundo do poço.

3.3.2. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Foi realizada de acordo com Camargo (1974).

3.3.2.1 Antígeno

O antígeno utilizado constituiu-se de taquizoítos íntegros de *T. gondii* cepa congênita (isolada de um caso humano), cedida pelo Laboratório de Imunoparasitologia- FIOCRUZ, RJ. A solução antigênica foi obtida a partir de lavados peritoniais de camundongos, com solução contendo antígeno (taquizoítos). Este antígeno foi inativado com solução de formol a 1% em PBS pH 7,2. O antígeno, antes de ser utilizado, sofreu diluição de 1:100 em PBS pH 7,2, sendo homogenizado em um

¹Imuno-HAI TOXO:WAMA Diagnóstica. Rua Aldo Germano Klein, 100. CEP 13560-971-São Carlos- SP- Brasil.

Eppendorf. A concentração de taquizoítos foi ajustada para que permanecesse uma quantidade de 60-80 taquizoítos por campo microscópico ao aumento de 400 vezes.

3.3.2.2 Procedimento de teste das amostras

As lâminas, para uso em imunofluorescência, foram impregnadas com o antígeno diluído, colocando-se 10 µl em cada área delimitada na lâmina. Estas foram à estufa a 37°C por 30 minutos, para fixação. Os soros foram diluídos 1:16 em PBS pH 7,2 e adicionados às lâminas contendo o antígeno, à razão de 10 µl de soro por poço. Em cada bateria de testes foram incluídos um soro controle positivo e outro negativo, oriundos, respectivamente, de amostras positivas e negativas da HAI. A incubação dos soros ocorreu em câmara úmida por 1 hora a 37°C. Após serem retiradas da estufa, elas foram lavadas por três vezes (5 minutos cada lavagem) com PBS pH 7,2. Depois de secas, acrescentou-se 10 µl do conjugado fluorescente (anti-gato IgG + isotilcianato de fluoresceína, SIGMA[®]) diluído a 1:32, conforme a especificação do fabricante, em solução previamente preparada de Azul de Evans 0,1%, conforme especificação do fabricante. A incubação e lavagem da reação do conjugado foram realizadas conforme descrito anteriormente. Após a secagem, as lâminas foram montadas sobrepondo-se duas gotas de glicerina tamponada em PBS e lamínula.

As leituras foram realizadas no microscópio de epifluorescência marca Olympus, modelo BX41, em objetiva de 40 vezes e ocular de 10 vezes. As amostras foram consideradas positivas quando 50% ou mais dos taquizoítos de cada campo microscópico apresentou fluorescência periférica completa.

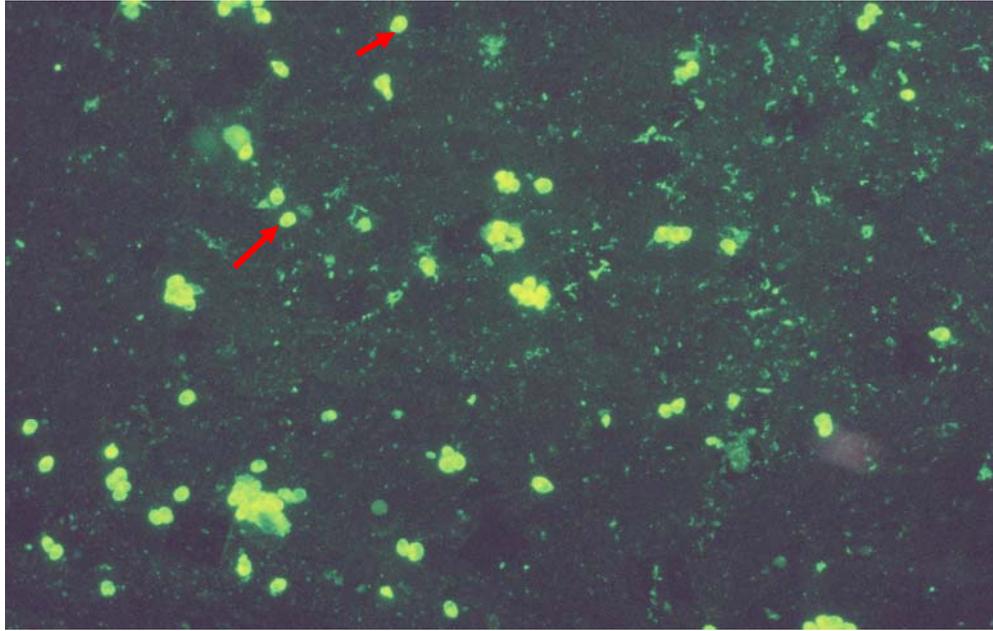


Figura 6 – Reação de imunofluorescência indireta com resultado positivo para anticorpos classe G contra *Toxoplasma gondii* em soro felino diluído a 1:16. Observar fluorescência periférica completa de tachizoítos (setas). Aumento 400 X.

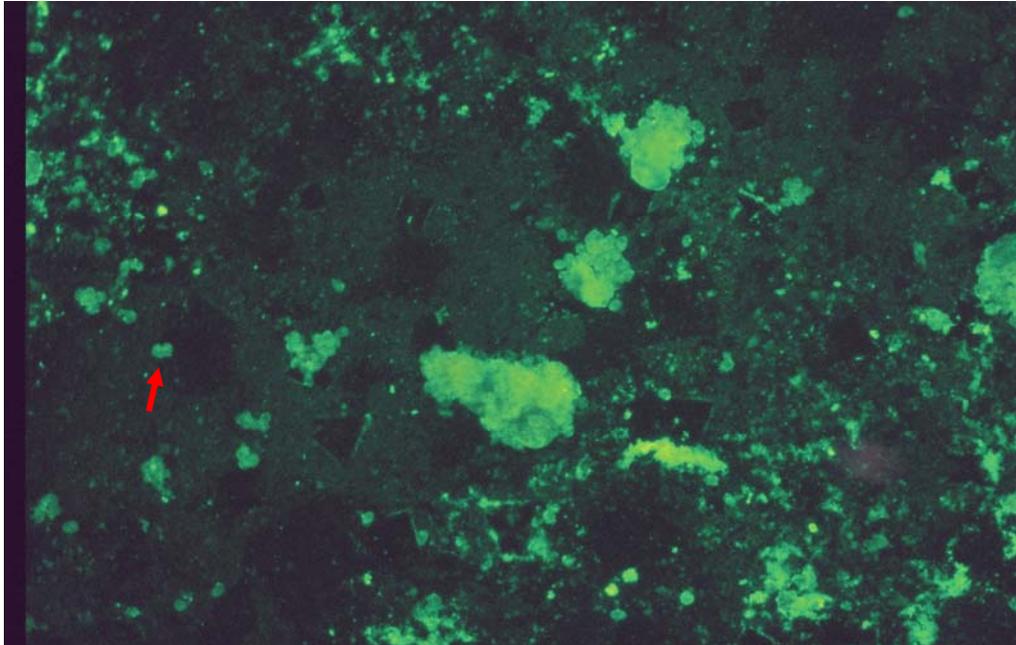


Figura 7 – Reação de imunofluorescência indireta com resultado negativo para anticorpos classe G contra *Toxoplasma gondii* em soro felino diluído a 1:16. Observar a ausência de fluorescência periférica completa de tachizoítos (seta). Aumento 400 X.

3.4 Análises Estatísticas:

Os resultados foram submetidos à análise estatística:

- O teste de McNemar's² foi utilizado nos estudos pareados;
- Análise das variáveis foi feita através da Regressão Logística³, Anova³ e qui-quadrado³;
- A porcentagem de Concordância foi calculada para verificar o relacionamento entre as duas técnicas, RIFI e HAI, segundo Coutinho *et al.* (1970) (Anexo 1);
- A estatística de Kappa (SMITH, 1995), foi utilizada para medir o grau de concordância real entre as duas técnicas (Anexo 2);

4 RESULTADOS

4.1 Reação de Hemaglutinação Indireta

Através da Reação de Hemaglutinação Indireta foram encontrados anticorpos para *T. gondii* em 26,94% das 245 amostras dos soros de felinos domiciliados oriundos de clínicas particulares da cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. Do total de 115 machos, 25,21% (29) foram positivos para Hemaglutinação Indireta e de 130 fêmeas, 28,46% (37) foram positivas para o mesmo teste. Os resultados detectados pela HAI em relação aos gêneros estão demonstrados na figura 8. A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa entre machos e fêmeas quanto à presença de anticorpos para *T. gondii* ($p = 0.568$).

² Graphpad Instat, Copyright©, 1990-1993, Graphpad Software, v 2.04

³ Minitab 15 Statistical Software

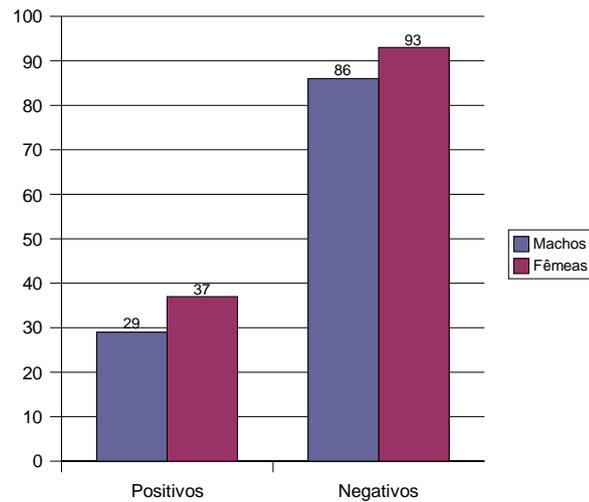


Figura 8- Resultados da Hemaglutinação Indireta para *T. gondii* referentes a machos e fêmeas de gatos domiciliados em Porto Alegre.

A Tabela 4 apresenta a variação detectada entre os gatos que tinham acesso à rua e os que não tinham acesso à rua, pela técnica de HAI.

Tabela 4 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de hemaglutinação indireta quanto ao acesso à rua, Porto Alegre, 2007.

Acesso à rua/Resultados	Negativos	Positivos	Total
Sim	66	38	104
Não	113	28	141
Total	179	66	245

p=0.004

Dos 104 gatos que tinham acesso à rua, 36,54% (38/104) foram positivos para HAI, percentagem esta superior aos animais que não têm acesso à rua, onde encontramos 19,86% (28/141). A probabilidade dos animais que têm acesso à rua de serem positivos é de 2,32 vezes maior em relação aos animais que não têm acesso à rua ($p = 0.004$, considerado significativo).

A Tabela 5 mostra-nos os resultados obtidos pela técnica de HAI em relação à variável raça.

Tabela 5 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de hemaglutinação indireta em relação à variável raça, Porto Alegre, 2007.

Raças/Resultados	Negativos	Positivos	Total
Outras	45	5	50
Siamês	22	10	32
Srd	112	51	163
Total	179	66	245

$p=0.010$

OBS: "outras" (Angorá,Persa, Exótico, Persa Himalaio)

Nestes dados há uma diferença significativa quando analisamos a categoria "outras", onde temos apenas 10% (5/50) de animais positivos, não havendo diferença significativa entre Siamês e Srd, 31,25% (10/32) e 31,29% (51/163), respectivamente.

A análise dos resultados dos testes sorológicos frente ao tipo de alimento fornecido aos animais está apresentada na tabela 6.

Tabela 6 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de hemaglutinação indireta em relação ao tipo de alimentação, Porto Alegre, 2007.

Tipo alimentação/Resultados	Negativos	Positivos	Total
Ração	114	37	151
Ração+carne cozida	65	29	94
Total	179	66	245

p=0.276

Analisando a Tabela 6, podemos concluir que o tipo de alimentação não influenciou nos resultados da HAI, pois a percentagem de positivos entre aqueles que comem ração e os que comem ração + carne cozida foi de 24,50% (37/151) e 30,85% (29/94), respectivamente.

Em relação à variável idade, os resultados dos testes sorológicos pela HAI são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de hemaglutinação indireta em relação à variável idade, Porto Alegre, 2007.

Idade/Resultados	Negativos	Positivos	Total
≥1 ano	163	66	229
<1 ano	16	0	16
Total	179	66	245

p= 0.000...

Estes dados nos revelam uma maior positividade em animais mais velhos, mostrando-nos que 28,82% (66/229) animais com idade maior ou igual a 1 ano são positivos sorologicamente para toxoplasmose na técnica de HAI.

4.2 Reação de Imunofluorescência Indireta

Anticorpos da classe G para *Toxoplasma gondii* foram encontrados em 37,96% dos 245 soros felinos domiciliados provindos de clínicas particulares da cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. Do total de 115 machos, 35,65% (41) foram positivos para Imunofluorescência indireta e de 130 fêmeas, 40% (52) foram positivas para o mesmo teste. Os resultados detectados pela RIFI em relação aos gêneros estão demonstrados na figura 9.

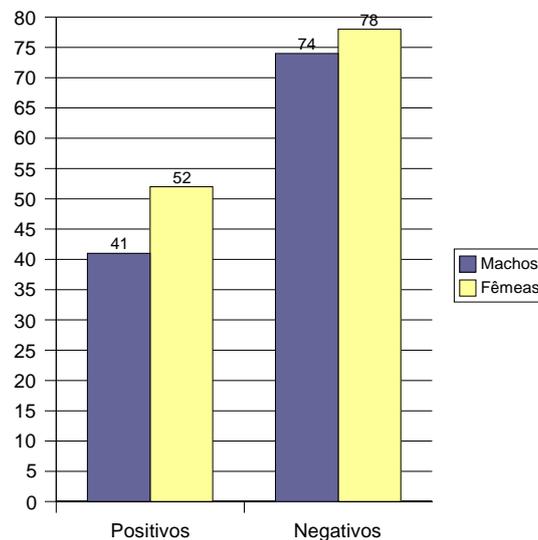


Figura 9 - Resultados da Reação de Imunofluorescência indireta para *T. gondii* referentes a machos e fêmeas de gatos domiciliados em Porto Alegre.

A análise estatística pelo qui-quadrado ($p = 0.484$) demonstrou não haver associação significativa entre os gêneros e os resultados da RIFI.

A Tabela 8 apresenta a variação detectada na frequência de anticorpos para *T. gondii* pela RIFI entre os gatos que tinham acesso à rua e os que não tinham acesso à rua.

Tabela 8 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela Reação de Imunofluorescência indireta quanto ao acesso à rua, Porto Alegre, 2007.

Acesso à rua/Resultados	Negativos	Positivos	Total
Sim	55	49	104
Não	97	44	141
Total	152	93	245

p= 0.011

Dos 104 gatos que tem acesso à rua, 47,11% (49/104) são positivos para RIFI, percentagem esta superior aos animais que não têm acesso à rua, onde temos 31,20% (44/141). A probabilidade dos animais que têm acesso à rua serem soropositivos para *T. gondii* é 1,96 vezes maior em relação aos animais que não têm acesso à rua.

A Tabela 9 mostra-nos a variável raça em relação aos resultados obtidos na RIFI.

Tabela 9 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de Imunofluorescência indireta em relação à variável raça, Porto Alegre, 2007.

Raça/Resultados	Negativos	Positivos	Total
Outras	33	17	50
Siamês	21	11	32
Srd	98	65	163
Total	152	93	245

p = 0.683

OBS: "outras" (Angorá, Persa, Exótico, Persa Himalaio)

Analisando os dados estatisticamente, não houve diferença significativa entre as raças e a positividade para RIFI. Os percentuais de positivos para as raças foram de 34,0% (Outras), 34,37% (Siamês) e 39,87% (Srd).

A Tabela 10 nos apresenta os resultados encontrados através da RIFI em relação à variável tipo de alimentação.

Tabela 10 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de Imunofluorescência indireta em relação ao tipo de alimentação, Porto Alegre, 2007.

Tipo alimentação/Resultados	Negativos	Positivos	Total
Ração	93	58	151
Ração + carne cozida	59	35	94
Total	152	93	245

p = 0.854

Através da Tabela 10, podemos concluir que o tipo de alimentação não influenciou nos resultados da RIFI. A percentagem de positivos que comem ração é de 38,41% (58/151) e a percentagem de positivos que comem ração+carne cozida é de 37,23% (35/94).

Em relação à variável idade e o valor da positividade para RIFI, temos os seguintes dados mostrados na Tabela 11.

Tabela 11 - Frequência de gatos soropositivos e soronegativos para *T. gondii* pela técnica de Imunofluorescência indireta em relação à variável idade, Porto Alegre, 2007.

Idade/Resultados	Negativos	Positivos	Total
≥1 ano	138	91	229
<1 ano	14	2	16
Total	152	93	245

p = 0.016

Dos 229 animais com idade igual ou maior que um ano 39,73% (91/229) são soropositivos para *T. gondii*. Nos animais com menos de um ano de idade o valor encontrado de soropositivos foi de 12,50% (2/16). Para um valor de p = 0.016, a chance de ser positivo aumenta conforme a idade.

4.3 Comparação entre as técnicas de Hemaglutinação Indireta e Imunofluorescência Indireta

O Teste de McNemar's demonstrou que houve diferença significativa entre as duas técnicas ($p = 0.0005$).

A Figura 10 demonstra os resultados positivos encontrados no processamento das 245 amostras de soros de felinos pelas técnicas de HAI e RIFI.

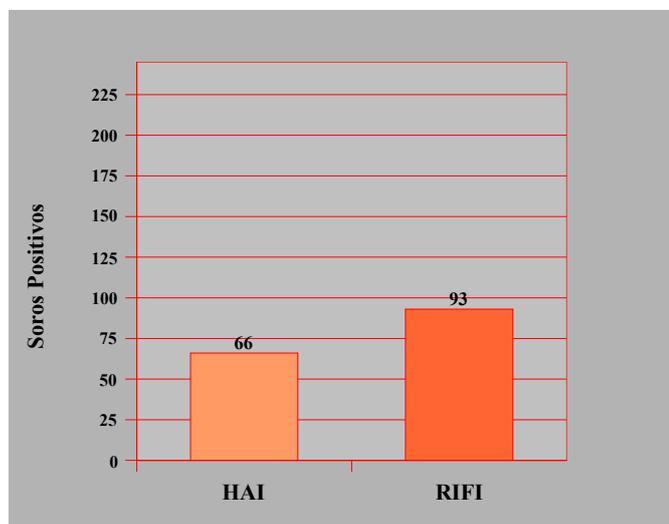


Figura 10 - Resultados sorológicos positivos encontrados na espécie felina pelas técnicas de HAI e RIFI.

Na Tabela 12 observamos os resultados obtidos pela Hemaglutinação Indireta e pela Imunofluorescência Indireta nos 245 soros de felinos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil, agrupados de acordo com a concordância dos resultados.

Tabela 12 - Distribuição dos soros de felinos de acordo com os resultados das técnicas de HAI e RIFI.

RIFI	TÉCNICAS		TOTAL
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	52	41	93
NEGATIVO	14	138	152
TOTAL	66	179	245

Segundo os dados da Tabela 12, o índice de co-positividade nas duas técnicas foi de 0,56 e o índice de co-negatividade 0,9, perfazendo um índice de concordância total de 0,775 (Anexo 1). Conforme os dados da Tabela 12, 26,94% (66/245) e 37,96% (93/245) das amostras foram positivas pelas técnicas de HAI e RIFI, respectivamente, enquanto que 43,67% (107/245) foram positivas em pelo menos um dos testes (Anexo 1). Os resultados foram discordantes em 22,44% (55/245) das amostras, sendo que 16,73% (41/245) foram consideradas falso-negativas por apresentarem resultado negativo apenas em uma das técnicas (HAI) e 5,71% (14/245) foram consideradas falso-positivas por apresentarem resultado positivo somente em uma das técnicas (HAI).

O Teste McNemar's aplicado aos dados da Tabela 12 detectou diferença significativa entre as duas técnicas para um $\alpha = 5\%$ ($p = 0.0005$), enquanto o valor Kappa calculado foi de 0.49 (Anexo 2).

5 DISCUSSÃO

A frequência de anticorpos para *T. gondii* observada no presente estudo vem ao encontro dos resultados encontrados por diferentes autores como Mendez (1983); Araujo *et al.* (2003); Netto *et al.* (2003); Miró *et al.* (2004); tendo citações em que a frequência encontrada foi maior como Garcia *et al.* (1999); Dubey (2002); Afonso *et al.* (2007) e em outros em que a frequência encontrada foi bem menor como Lucas *et al.* (1999) e Bresciani *et al.* (2007).

Em relação à região de Porto Alegre, os resultados obtidos por Mendez (1983) e Araujo *et al.* (2003) foram de 24% e 37%, respectivamente. Isto demonstra que os níveis de anticorpos em felinos da região de Porto Alegre mantiveram-se estáveis nesses últimos anos.

Analisando a variável acesso à rua, De Feo *et al.* (2002), não constataram diferença estatística significativa, de soropositividade, entre os gatos de rua (50%; 42/84) daqueles que possuíam domicílio (36%; 42/116) e Salant e Spira (2004), evidenciaram uma maior prevalência em gatos domiciliados que não tinham acesso à rua (40%), do que daqueles que viviam exclusivamente na rua (26%), discordando, ambos, dos nossos resultados. Porém, Lucas *et al.* (1999), relataram que o acesso à rua foi um fator que contribuiu para a positividade dos 248 gatos domiciliados da cidade de São Paulo, concordando com a nossa pesquisa. Em 2002, Dubey *et al.*, em um estudo sobre prevalência de *T. gondii* em gatos domésticos usando o MAT, constataram um valor de 48% de positivos para um total de 275 animais. A soropositividade em relação ao acesso à rua foi de 62%, apresentando-se mais elevada que o resultado encontrado em nosso estudo, que foi de 36,54% na RIFI. Essa diferença pode ser devido ao teste sorológico empregado. Miró *et al.* (2004), na Espanha, demonstraram uma soroprevalência total, para felinos sem dono, de áreas rurais e domiciliados, de 32,3% na RIFI e uma diferença significativa foi encontrada em gatos de rua e de áreas rurais (36,4%) quando comparados aos gatos domiciliados (25,5%). Moura *et al.* (2007), em 106 gatos domésticos com livre acesso à rua, em uma ilha do Caribe, 84,9% foram positivos para *T. gondii* no teste da aglutinação modificado. Os autores sugerem que a contaminação do meio ambiente por oocisto, é muito elevada nesta região, contribuindo com a elevada taxa de soropositividade.

Os resultados referentes à positividade dos felinos que tem acesso à rua e a positividade total encontrada em nosso estudo, evidencia a importância do ambiente na

contaminação por *T. gondii* desses felinos. Lucas *et al.* (1999), confirmam este fato, quando relatam que gatos domiciliados com livre acesso à rua têm oportunidade de caçar pequenas presas, ficando mais suscetíveis à infecção pelo parasito do que aqueles que vivem exclusivamente dentro do domicílio. Moura *et al.* (2007), sugerem em seus estudos, a importância do meio ambiente contaminado por oocistos de *T. gondii*. Este ambiente serve de fonte de contaminação para seres humanos e animais que o frequentam.

McAllister (2005) sugere que os gatos não andem livremente pelos ambientes externos, pois a redução da prevalência da doença nestes animais diminuirá, conseqüentemente, a prevalência em humanos. O solo contaminado pelo parasito é uma fonte constante de infecção de difícil controle. Com o acesso dos felinos à áreas onde possam caçar pássaros e roedores, esses felinos estarão sempre expostos a contaminação.

Os resultados encontrados no presente estudo, em relação ao tipo de alimentação, não revelaram influência na soropositividade dos gatos domiciliados de Porto Alegre. Na regressão logística, o tipo de alimentação não foi estatisticamente significativo quando comparada ao acesso à rua e a raça. Discordando do nosso resultado, Silva *et al.* (2002) e Lucas *et al.* (1999), sugeriram que a alta taxa de positividade seria conseqüência dos proprietários alimentarem seus animais com carne crua, sendo que em nosso estudo a variante alimentação não teve influência na soropositividade.

Afonso *et al.* (2007), pelo teste da aglutinação modificado, obtiveram uma soroprevalência de 51,09% em 276 soros de felinos sem dono, em um arquipélago do Oceano Índico. O tipo de alimentação influenciou significativamente a positividade do resultado, pois eles alimentavam-se com animais silvestres, principalmente coelhos.

Cavalcante *et al.* (2006), pela RIFI, encontraram um resultado de 87,3% de positividade para *T. gondii* em felinos, em Rondônia, Brasil, pertencentes a 71 fazendas. Estas fazendas possuíam, também, suínos soropositivos para o parasito. Os gatos e humanos alimentavam-se com carne mal cozida desses suínos, embora, os autores afirmaram que a causa da alta soroprevalência dos gatos foi o meio ambiente muito contaminado por oocistos.

Miró *et al.* (2004), demonstraram que felinos não domiciliados e aqueles que vivem em fazendas têm uma prevalência maior para *T. gondii*, pois o tipo de alimentação desses animais, na maioria das vezes, é composta de pássaros, coelhos e pequenos roedores, contribuindo para sua positividade.

Dubey (1996), afirma em seu estudo, que a carne bovina raramente apresenta cistos de *T. gondii*, indo ao encontro de nossos resultados, uma vez que os dados obtidos, através da análise dos questionários epidemiológicos, evidenciaram que a origem da carne fornecida aos felinos era da espécie bovina.

Breciani *et al.* (2007), em Araçatuba, São Paulo, constataram pela RIFI, utilizando um ponto de corte ≥ 64 , uma soropositividade de 25% (100/400) para *T. gondii* em felinos do centro de controle de zoonoses. A ocorrência de felinos adultos positivos foi bem maior quando comparados aos filhotes, sendo os valores iguais a 39,2% e 13,2%, respectivamente, apresentando uma diferença significativa, concordando com nossos resultados. Em relação às raças e gêneros, os resultados foram semelhantes aos nossos. Pena *et al.* (2006), obtiveram resultados semelhantes ao de Breciani *et al.* (2007), em relação a idade, com resultados muito próximos: gatos adulto 41,4% e filhotes 13,7% de positividade para *T. gondii*.

Garcia *et al.* (1999), constataram que a relação entre os fatores positividade e gatos mais velhos, se justifica pela probabilidade maior desses animais de terem contato prévio com o parasito

Com referência aos gêneros, De Feo *et al.* (2002); Araujo *et al.* (2003); Pena *et al.* (2006), não encontraram diferença significativa, assemelhando-se aos nossos resultados. Miró *et al.* (2004), observaram em gatos sem dono, uma prevalência maior em machos do que em fêmeas, não constatando esta diferença em gatos domiciliados.

Pena *et al.* (2006), enfatizam em seus estudos, concordando com nossos dados, que a soroprevalência de *T. gondii* em gatos é dependente de alguns fatores como o livre acesso à rua, a idade dos felinos, o método sorológico testado, evidenciando, também, que o fator gênero têm igual suscetibilidade para a infecção. A manutenção dos felinos dentro dos domicílios e o fornecimento de alimentação comercial ou bem cozida, na opinião desses autores, contribuem para a redução da prevalência de *T. gondii* nos gatos, assim como, o controle de gatos sem donos.

Em relação à comparação entre técnicas sorológicas, Concuera, Lozano e Lopez (1981), compararam as técnicas de HAI, RIFI, ELISA, FC (Fixação do Complemento), AD (Agglutinação direta), em mulheres em idade fértil (100/195) e 95 mulheres gestantes (95/195). Das cinco técnicas utilizadas, os autores concluíram que a especificidade e sensibilidade variam com cada técnica, e obtiveram os melhores resultados com RIFI, ELISA e HAI. Eles sugeriram que se devem adotar a utilização, de no mínimo, duas técnicas dentre estas três, para a sorologia toxoplásmica.

Camargo *et al.* (1986), compararam o teste de HAI com RIFI e CAP-M (Teste

imunoenzimático de captura de anticorpos IgM) quanto à sensibilidade e especificidade. Esta comparação foi feita em 350 soros humanos. Todos os soros reagentes no teste RIFI-IgG o foram, também, no teste HAI, com 50,9% de soros reagentes para RIFI e 52,0% para HAI. Deste modo, o teste de HAI pode ser utilizado na triagem de indivíduos reatores e não reatores e, de preferência associado a outro teste como RIFI-IgG ou CAP-M.

Uchôa *et al.* (1999), padronizaram um teste de ELISA e compararam com a RIFI em soro humano de 103 indivíduos do Rio de Janeiro. A partir dos resultados, concluíram que o teste ELISA-IgG padronizado (E=75%), mostrou-se eficiente para a triagem sorológica, apresentando correlação positiva moderada com o teste de RIFI-IgG, sendo o RIFI um teste de maior especificidade (E=79,1%).

Silva, Cutolo e Langoni (2002), compararam a RIFI e o método de aglutinação direta (MAD) em soros de várias espécies animais, sendo uma delas a felina. Sua positividade para RIFI foi de 18% e para MAD 19% tendo a concordância de resultados positivos entre os dois métodos de 63 a 88%, enquanto a concordância de resultados negativos variou de 94 a 96%. A nossa concordância de resultados positivos foi de 56% e de resultados negativos de 90%, valores mais baixos que o encontrado por eles. O índice kappa, em nosso trabalho, teve um valor de 0.49, sendo considerada uma probabilidade de concordância moderada; enquanto que no referido trabalho o índice foi de 0.76. Essa diferença pode ser devido ao fato dos autores citados terem feito a comparação entre RIFI e MAD, enquanto que em nosso trabalho a comparação foi feita entre a HAI e RIFI.

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que:

1- As freqüências de anticorpos para *Toxoplasma gondii* nos soros de felinos domiciliados atendidos em clínicas particulares da cidade de Porto Alegre, analisados neste estudo foram de 26,94% pela técnica de Hemaglutinação Indireta e 37,96% pela técnica de Imunofluorescência Indireta.

2- A taxa de co-positividade das duas técnicas foi de 56% e a de co-negatividade de 90%, perfazendo uma taxa de concordância global de 77,5%.

3- Os felinos que têm acesso à rua possuem mais chances de se contaminar com o parasito quando comparados com aqueles que não têm este acesso.

4- Quanto mais avançada à idade, maior a probabilidade dos felinos serem soropositivos para toxoplasmose.

5- Não foi detectada influência das variáveis gênero, raça e alimentação nos resultados das sorologias.

6- A técnica da RIFI foi significativamente superior à HAI para detecção de anticorpos de *T. gondii* em soros de felinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. Publicación Científica n° 354. Organización Panamericana de La Salud, Washington, Estados Unidos, p. 407-417, 1977.
- AFONSO, E.; THULLIEZ, P.; PONTIER, D.; GILOT-FROMONT, E. Toxoplasmosis in prey species and consequences for prevalence in feral cats: not all prey species are equal. **Parasitology**, 03 Aug., p. 1-9, Cambridge University Press, 2007.
- AJIOKA, J.W. *et al.* **Expert Reviews in Molecular Medicine**, 1-19, Cambridge University Press, 2001.
- ALCAÍNO, H.; GORMAN, T.; LARENAS, I. Fauna endoparasitaria del gato domestico em una zona urbana marginal de la Region Metropolitana de Chile. **Parasitol. Día**, v. 16, p. 139-142, 1992.
- APPLEFORD, P.J.; SMITH, J.E. Strain and stage specific variation in *Toxoplasma gondii* antigens. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1187-1191, 2000.
- ARAÚJO, W.N.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Toxoplasmose: uma zoonose-realidades e riscos. **Revista Cães e Gatos**, n. 79, ano 13, nov/dez, 1998.
- ARAUJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; OLICHESKI, A.T.; BECK, C.; RODRIGUES, R.J.D.; FIALHO, C.G. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 2, p. 89-92, 2003.
- BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; JONES, J.L.; SILVA, J.A.; ALVES, C.C.F.; ORÉFICE, F.; ADDISS, D.G. Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, 2003.
- BARBOSA, C.J.D.G.; MOLINA, R.J.; SOUZA, M.B.; SILVA, A.C.A.; MICHELETTI, A.R.; REIS, M.A.; TEIXEIRA, V.P.A.; VERGARA, M.L.S. Disseminated Toxoplasmosis presenting as sepsi in two AIDS patients. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 2, p. 113-116, 2007.
- BARTOLI M.; NACCA, A.; LICCIARDI, V.; VENEZIANO, V.; CRINGOLI, G. Anticorpi verso *Toxoplasma gondii* in cani e Gatti della provincia di Benevento. **Acta Med. Vet.**, v. 42, p. 191-196, 1996.
- BENVISSUTO, G.A. Imunologia. In: PIZZI, H.L. **Toxoplasmosis**. 1° ed., Argentina: Rhône Poulenc Rorer, 1997, 91 p.
- BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 03, p. 607-623, 2000.
- BLOOD, D.C.; RADOSTIST, O.M. **Clínica Veterinária**. 7° ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, 1263 p.

BOWIE, W.R.; KING, A.S.; WERKER, D.H.; RENTON, J.L.I.; BELL, A.; ENG, S.B.; MARION, S.A. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. **The Lancet**, v. 350, p. 173-177, 1997.

BRESCIANI, K.D.S.; GENNARI, S.M.; SERRANO, A.C.M; RODRIGUES, A.A.R.; UENO, T.; FRANCO, L.G.; PERRI, S.H.V.; AMARANTE, A.F.T. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. **Parasitology Res.**, v. 100, p. 281-285, 2007.

CABANNES, A.; LUCCHESI, F.; HERNANDEZ, J.C.; *et al.* Enquête séroépidémiologique sur *Toxoplasma gondii* chez les ovins, bovins et félins dans le département de la Gironde. **Bull. Soc. Fran. Parasitol.**, v. 15, p. 11-22, 1997.

CAMARGO, M.E. Introdução as técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 10, n. 3, p. 87-107, 1974.

CAMARGO, M.E. Toxoplasmose Diagnóstico Sorológico. **Boletim Médico do Laboratório Bronstein**, ano V, jan/fev, 1996, 4 p.

CAMARGO, M.E.; FERREIRA, A.W.; ROCCA, A.; BELER, Z.R. Um teste prático para a sorologia da toxoplasmose: o teste de hemaglutinação. Estudo comparativo com os testes de imunofluorescência e imunoenzimático de captura de IgM. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 22, n. 6, p. 196-201, 1986.

CAMARGO, M.C.G.O.; MOURIZ, E.S.M.; D'AURIA, S.R.N.D.; FRAGA, G.M.D. Toxoplasmose em felinos do município de São Paulo - Brasil, 1993-1995. In: **2º Congresso Argentino de Zoonosis. Buenos Aires. Anais, Asociación Argentina de Zoonoses**, 1998, p. 97.

CARMO, E.L.; ALMEIDA, E.F.; BICHARA, C.N.; PÓVOA, M.M. Pesquisa de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em fluidos intra-oculares (humor vítreo e humor aquoso) de pacientes com toxoplasmose ocular, na cidade de Belém, PA. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 1, p. 77-79, 2005.

CAVALCANTE, G.T.; AGUIAR, D.M.; CHIEBAO, D.; DUBEY, J.P.; RUIZ, V.L.A.; DIAS, R.A.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural Western Amazon, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 863-864, 2006.

CHEMELLO, D.; ECKERT, G.U.; TEIXEIRA, C.G. Imunidade a Parasitas. In: SCROFERNEKER, M.L.; POHLMANN, P.R. **Imunologia Básica Aplicada**. Porto Alegre: Sagra Luzatto, 1998, 380 p.

CHONG, L.H.; SINGH, M.; CHUA, S.B.; FONG, W.E. Feline toxoplasmosis in Singapore. **Singapore, Vet. J.**, v. 17, p. 79-87, 1993.

CLAUS, G.E.; CHRISTIE, E.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma* antibody in feline sera. **Journal of Parasitology**, v. 63, p. 266-266, 1977.

CORCUERA, M.T.; LOZANO, J.; LOPEZ, F.R.F. Estudio comparativo de las distintas técnicas serológicas utilizadas para el diagnóstico de la toxoplasmosis. **Rev. San. Hig.**

Publ., v. 55, p. 1045-1059, 1981.

CORREA, F.M.A.; SALATA, E.; OLIVEIRA, M.R. *Toxoplasma gondii*: diagnóstico pela imunofluorescência indireta em suínos no Estado de São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v. 45, n. 4, p. 209-212, 1978.

COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de; MALVAR, G.S.; FERREIRA, L.F. Análise comparativa entre as sensibilidades da Reação Indireta de Anticorpos Fluorescentes e da Reação de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos séricos para toxoplasmose. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Rio de Janeiro, v. IV, n. 5, p. 315-325, 1970.

DAVIDSON, M.G. Toxoplasmosis. **Vet. Clin. North American Small Animals Practice**, v. 30, n. 5, p. 1051-1062, 2000.

DE FEO, M.L.; DUBEY, J.P.; MATHER, T.N.; RHODES, R.C. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. **American Journal Veterinary Research**, v. 63, p. 1714-1717, 2002.

DIAS, R.A.F.; NAVARRO, I.T.; RUFFOLO, B.B.; BUGNI, F.M.; CASTRO, M.V.; FREIRE, R.L. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n. 4, p. 185-189, 2005.

DUBEY, J.P. Feline toxoplasmosis and coccidiosis: a survey of domiciled and stray cats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 162, p. 873-877, 1973.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.

DUBEY, J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 65-70, 1996.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1019-1024, 1998a.

DUBEY, J.P. Re-examination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites to pepsin and trypsin digestion. **Parasitology**, v. 116, p. 43-50, 1998b.

DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. **The Journal of Parasitology**, v. 84, n. 4, p. 862-865, 1998c.

DUBEY, J.P. Tachyzoite induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. **Journal Parasitology**, v. 88, n. 4, p. 713-717, 2002.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. In: Mandell GL, Bennett JE & Dolin R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. Elsevier. Philadelphia, 2005.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in cats and dogs. In: **30th World Small Animal Veterinary Association**, México, 2005. Disponível em:

<http://www.vin.com/proceeding/Proceeding>. Acesso em 17 jul.2007.

DUBEY, J.P. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 69-75, 2006.

DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of Animals and Man**. CCR Press: Boca Raton, Florida. 1988, 220 p.

DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P. Serologic diagnosis of toxoplasmosis in cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 194, n. 9, p. 1297-1299, 1989.

DUBEY, J.P.; WEIGEL, R.M.; SIEGEL, A.M.; THULLIEZ, P.; KITRON, U.D.; MITCHELL, M.A.; MANNELLI, A.; MATEUS-PINILLA, N.E.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; TODD, K.S. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. **Journal of Parasitology**, v. 81, p. 723-729, 1995.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; GAMBLE, H.R. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 235-238, 1999.

DUBEY, J.P.; SAVILLE, W.J.A.; STANEK, J.F.; REED, S.M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from rural Ohio. **Journal of Parasitology**, v. 88, n.4, p. 802-803, 2002.

DUBEY, J.P.; ZARNKE, R.; THOMAS, N.J.; WONG, S.K.; BONN, W.V.; BRIGGS, M.; DAVIS, J.W.; EWING, R.; MENSE, M.; KWOK, O.C.H.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis* - like infections in marine mammals. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 275-296, 2003.

DUBEY, J.P.; NAVARRO, I.T.; SREEKUMAR, C.; DAHL, E.; FREIRE, R.L.; KAWABATA, H.H.; VIANNA, M.C.B.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; THULLIEZ, P.; LEHMANN, T. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. **Journal Parasitology**, v. 90, n. 4, p. 721-726, 2004.

DUBEY, J.P.; HILL, D.E.; JONES, J.L.; HIGHTOWER, A.W.; KIRKLAND, E.; ROBERTS, J.M.; MARCET, P.L.; LEHMANN, T.; VIANNA, M.C.B.; MISHA, K.; SCREEKUMAR, C.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; GAMBLE, H.R. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. **Journal Parasitology**, v. 91, n. 5, p. 1082-1093, 2005.

DUBEY, J.P.; SU, C.; CORTÉS, J.A.; SUNDAR, N.; GOMEZ-MARIN, J.E.; POLO, L.J.; ZAMBRANO, L.; MORA, L.E.; LORA, F.; JIMENEZ, J.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; ZHANG, X.; NIETO, A.; THULLIEZ, P. Prevalence of *Toxoplasma*

gondii in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. **Veterinary Parasitology**, v. 141, p. 42-47, 2006.

DUMÈTRE, A.; DARDÉ, M.L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? **Federation of European Microbiological Societies - Microbiology Reviews**, v. 27, p. 651-661, 2003.

FERNÁNDEZ, F.; OUVINÃ, G.; CLOT, E.; FERNANDES, G.R.; CODONI, C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in the western part of Great Buenos Aires, Argentina, 1993. **Vet. Parasitol.**, v. 59, p. 75-79, 1995.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**, 4º ed. São Paulo: Ícone, 2004, 607 p.

FRANCISCO, F.M.; SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M.; PINHEIRO, S.R.; MURADIAN, V.; SOARES, R.M. Seroprevalence of Toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 167-170, 2006.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Tratado de Infectologia**. Atheneu, 1997, 1803 p.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Science**, v. 167, p. 893-896, 1970.

FREYRE, A. **Toxoplasmosis em las espécies domésticas y como zoonosis**. Montevideo: Departamento de Publicaciones de La Universidad de la Republica do Uruguai, 1989, 332 p.

GAGNE, S.S. Toxoplasmosis. **Primary Care Update for Ob/Gyns**, v. 8, n. 3, p. 122-126, 2001.

GALVÁN, R.M.; SÁNCHEZ, V.G.; VIELMA, S.M.; SOTOMANCILLA, J.L. Presence of anti-*Toxoplasma* antibodies in humans and their cats in the urban zone of Guadalajara. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 32, p. 483-488, 1999.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da Toxoplasmosis em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.

GROSS, U.; BOHNE, W.; SOËTE, M.; DUBREMETZ, J.F. Developmental differentiation between tachyzoites and bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Today**, v. 12, n. 1, p. 30-33, 1996.

HALL, S.M.; PANDIT, A.; GOLWILKAR, A.; WILLIAMS, T.S. How do Jains get toxoplasma infection? **The Lancet**, v. 354, p. 486-487, 1999.

HEUKELBACH, J.; CIRKEL, V.M.; MOURA, R.C.S.; GOMIDE, M.; QUEIROZ, J.A.N.; SAWELJEW, P.; LIESENFELD, O. Waterborne Toxoplasmosis, Northeastern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 2, p. 287-289, 2007.

HILL, D.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 8, p. 634-640, 2002.

HILL, D.E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J.P.; LUNNEY, J.K.; GAMBLE, H.R. Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. **Veterinary Parasitology**, v. 141, p. 9-17, 2006.

HOFFMANN, C.; ERNST, M.; MEYER, P.; WOLF, E.; ROSENKRANZ, T.; PLETTENBERG, A.; STOEHR, A.; HORST, H.A.; MARIENFELD, K.; LANGE, C. Evolving characteristics of toxoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus-1: clinical course and *Toxoplasma gondii* - specific immune responses. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 13, p. 510-515, 2007.

HUGHES, J.M.; COLLEY, D.G.; LOPEZ, A.L.; DIETZ, V.J.; WILSON, M.; NAVIN, T.R.; JONES, J.L. Preventing Congenital Toxoplasmosis. **National Center for Infectious Diseases**, v. 49, p. 57-75, 2000.

ISAAC-RENTON, J.; BOWIE, W.R.; KING, A.; IRWIN, G.S.; ONG, C.S.; FUNG, C.P.; SHKEIR, M.O.; DUBEY, J.P. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 6, p. 2278-2280, 1998.

İNCI, A.; BUDAK, C.; DINCER, S. Ankara'da kedilerde Sabin-Feldman boya testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. **Türk Parazitol Derg.**, v. 20, p. 407-411, 1996.

JACOBS, L.; MELTON, M.L. A procedure for testing meat samples for toxoplasma, with preliminary results of a survey of pork and beef sample. **J. Parasit.**, v. 43, p. 38-39, 1957.

JOHNSON, A.M. Is more than one species in the genus *Toxoplasma* ?? **Tokai Journal Exp. Clin. Med.**, v. 23, n. 6, p. 383-389, 1999.

JONES, J.L.; MORAN, D.K.; WILSON, M.; McQUILLAN, G.; NAVIN, T.; McAULEY, J.B. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. **American Journal of Epidemiology**, v. 154, n. 4, p. 357-365, 2001.

JORGE, A.O.C. **Princípios de Microbiologia e Imunologia**. Editora Santos, 2006, 324 p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10^o ed., São Paulo: Atheneu, 2000, 428 p.

LANG, C.; GROB, U.; LÜDER, C.G.K. Subversion of innate and adaptive immune responses by *Toxoplasma gondii*. **Parasitol. Res.**, v. 100, p. 191-203, 2007.

LANGONI, H.; DA SILVA, A.V.; CABRAL, K.G.; CUNHA, E.L.P.; CUTOLO, A.A. Inquérito sorológico para a toxoplasmose em felinos, Botucatu, 1998. In: **III Seminário Nacional de Zoonoses. Guarapari. Anais, Secretaria de Estado da Saúde**. Espírito Santo, 1998, p. 146.

LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis felina. **Waltham Focus**, v. 4, n. 4, 1994.

LARSSON, C.D. Diagnóstico laboratorial da Toxoplasmose - reações utilizadas e

interpretação clínica. **Cães e Gatos**, jan/fev., p. 5-11, 1989.

LEVINE, N.D. **Veterinary Protozoology**. Ames, Iowa State University Press, EUA, 1985.

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. **Br. Vet. J.**, v. 146, p. 468-475, 1990.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 73, p. 27-33, 1997.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 103, p. 309-313, 2002.

LINDSAY, D.S.; COLLINS, M.; MITCHELL, S.M.; COLE, R.A.; FLICK, G.J.; WETCH, C.N.; LINDQUIST, A.; DUBEY, J.P. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. **J. Eukaryot. Microbiology**, p. 687-688, 2003.

LINDSTRÖM, I.; MULINDWA, D.H.K.; KIRONDE, F.; LINDH, J. Prevalence of latent and reactivated *Toxoplasma gondii* parasites in HIV-patients from Uganda. **Acta Tropica**, v. 100, p. 218-222, 2006.

LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; LOUREIRO, V.S.; IKESAKI, J.Y.H.; BIRGEL, E.H. *Toxoplasma gondii* infections in brazilian domestic outpatient cats. **Revista do Instituto Tropical de São Paulo**, v. 41, n. 4, p. 221-224, 1999.

LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **International Journal of Food Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 357-363, 1992.

LYONS, R.E.; McLEOND, R.; ROBERTS, C.W. *Toxoplasma gondii* tachyzoite-bradyzoite interconversion. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 5, 2002.

MACÊDO, V. Toxoplasmose. In: CASTRO, L.P.; CUNHA, A.L.; REZENDE, J.M. **Protozooses Humanas**, cap.10, São Paulo, Fundação BYK, 1994, 226 p.

MARTINS, M.C.; SILVEIRA, C.M.; JAMRA, L.F.; BARROS, P.M.; JUNIOR, R.B.; RIGUEIRO, M.P.; NEVES, R.A. Isolamento de *Toxoplasma gondii* de carnes e derivados, provenientes de região endêmica de toxoplasmose ocular - Erechim - RS. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 53, n. 2, p. 60-66, 1990.

MARTINS, C.S.; VIANA, J.A. Toxoplasmose - o que todo profissional de saúde deve saber. **Clínica Veterinária**, ano III, julho/agosto, n. 15, p. 33-37, 1998.

McALLISTER, M.M. A decade of discoveries in veterinary protozoology changes our concept of "subclinical" toxoplasmosis. **Veterinary Parasitology**, v. 132, p. 241-247, 2005.

MENDEZ, L.D.V. **Prevalência de coccídios e anticorpos anti-toxoplásmicos em gatos domésticos de Porto Alegre, RS - Brasil.** Porto Alegre, 38 p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1983.

MENDONÇA, A.O. **Detecção de *Toxoplasma gondii* em lingüiças suínas tipo frescal, comercializadas no município de Botucatu - SP.** São Paulo, 41 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Surto de Toxoplasmose no Município de Anápolis - GO, fevereiro de 2006.** Disponível em: <http://portal.saude.gov.br>. Acesso em 08. jul.2007.

MIRÓ, G.; MONTOYA, A.; JIMÉNEZ, S.; FRISUELOS, C.; MATEO, M.; FUENTES, I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 249-255, 2004.

MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, p. 1965-1976, 2004.

MOURA, L.; KELLY, P.; KRECEK, R.C.; DUBEY, J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from St. Kitts, West Indies. **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 4, p. 952-953, 2007.

NAVARRO, I.T. **Toxoplasmose.** Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Londrina- PR, 2001. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br>. Acesso em 12. out.2007.

NETTO, E.G.; MUNHOZ, A.D.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G.; FERREIRA, A.M.R. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v. 12, n. 4, p. 145-149, 2003.

NEVES, D.P. **Parasitologia Dinâmica.** Editora Atheneu, São Paulo, 2003, 474 p.

NOGAMI, S.; MORITOMO, T.; KAMATA, H., *et al.* Seroprevalence against *Toxoplasma gondii* in domiciled cats in Japan. **J. Vet. Med. Sci**, v. 60, p. 1001-1004, 1998.

PARMLEY, S.; SLIFER, T.; ARAUJO, F. Protective effects of immunization with a recombinant cyst antigenin mouse models of infection with *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 185, n. 1, p. 90-95, 2002.

PENA, H.F.J.; SOARES, R.M.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. **Research in Veterinary Science**, v. 81, n. 1, p. 58-67, 2006.

PIZZI, H.L. **Toxoplasmosis.** 1º ed. Argentina: Rhône Poulenc Rorer Argentina, 1997, 91 p.

POWELL, C.C.; BREWER, M.; LAPPIN, M.R. Detection of *Toxoplasma gondii* in the Milk of experimentally infected lactating cats. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 29-33, 2001.

REMYINGTON, J.S.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: REMINGTON, J.S.; KLEIN, J.O. **Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant**, 3 rd, ed. Philadelphia, Saunders, 1990, 1373p.

ROSA, J.A.; BUAINAIN, A.; BELDA NETO, F.M. *Toxoplasma gondii* em gatos da cidade de Araraquara-SP - Estudo sorológico e coproparasitológico. **Rev. Ciênc. Farm.** São Paulo, v. 8/9, p. 105-111, 1986/1987.

SALANT, H.; SPIRA, D.T. A cross-sectional survey of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Jerusalem cats. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 167-177, 2004.

SHERDING, R.G. Toxoplasmose, Neosporose e outras infecções protozoárias multissistêmicas. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders-Clinica de Pequenos Animais**, Roca, São Paulo, 1998, 1591 p.

SILVA, A.V.; CUTOLO, A.A.; LANGONI, H. 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. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2002.

SILVA, J.C.R.; GENNARI, S.M.; RAGOZO, A.M.A.; AMAJONES, V.R.; MAGNABOSCO, C.; YAI, L.E.O.; NETO, J.S.F.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic cats from Guarulhos and São Paulo, Brazil. **Journal Parasitology**, v. 88, n. 2, p. 419-420, 2002.

SKINNER, L.J.; TIMPERLEY, A.C.; WIGHTMAN, D.; CHATTERTON, J.M.; DO, H.Y. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 22, n.3, p. 359-361, 1990.

SMITH, K.E.; ZIMMERMAN, J.J.; PATTON, S.; BERAN, G.W.; HILL, H.T. The epidemiology of toxoplasmosis in Iowa swine farms with emphasis on the role of free living mammals. **Veterinary Parasitology**, v. 42, p. 199-211, 1992.

SMITH, R.D. **Veterinary Clinical Epidemiology, a problem oriented approach**. 2º ed., CCR Press, 1995, 279 p.

SPEER, C.A.; DUBEY, J.P. Ultrastructural differentiation of *Toxoplasma gondii* schizonts (types B to E) and gamonts in the intestines of cats fed bradyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 193-206, 2005.

TENDER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**, 2º ed., Roca, 2004, 556p.

TUGAL-TUTKUN, I.; CORUM, I.; ÖTÜK, B.; URGANCIOGLU, M. Active ocular toxoplasmosis in Turkish patients: a report on 109 cases. **Int. Ophthalmol.**, v. 26, p.

221-228, 2005.

UCHÔA, C.M.A.; DUARTE, R.; SILVA, V.L.; ALEXANDRE, G.M.C.; FERREIRA, H.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. Padronização de ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti- *Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de imunofluorescência indireta. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 661-669, 1999.

UNBEHAUEN, I. Untersuchngen über das Vorkommen Von Darmparasiten bei Katzen im Raum Lübeck. **Thesis, Dr. Vet. Med.**, Hannover, 1991.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**, 2º ed., Guanabara Koogan, 1998, 273 p.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: epidemiologia e importância da doença na saúde animal. **Semina: Cl. Agr.**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 69-75, 1992.

WARNEKULASURIYA, M.R.; JOHNSON, J.D.; HOLLIMAN, R.E. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. **International Journal of Food Microbiology**, v. 45, p. 211-215, 1998.

WOLF, A.; COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to na encephalitozoon (encephalitozic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man, **Bull. Neurol. Inst. N.Y.**, 6, 306, 1937.

ZAPATA, M.; REYES, L.; HOLST, I. Decreased prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in adults from the central valley of Costa Rica. **Parasitol. Latinoam.** , v. 60, n. 1-2, p. 32-37, 2005.

ANEXO I
CÁLCULO DA PORCENTAGEM DE CONCORDÂNCIA

TÉCNICAS			
RIFI	HAI		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	a	b	a+b
NEGATIVO	c	d	c+d
TOTAL	a+c	b+d	a+b+c+d

Concordantes positivos= a

Concordantes negativos= d

Não concordantes= b+c, sendo b falsos negativos e c falsos positivos

Índice de co-positividade= $\frac{a}{a+b}$

Índice de co-negatividade= $\frac{d}{c+d}$

% de Concordância= $\frac{a+d}{a+b+c+d}$

a+b+c= total de soros testados que foram positivos em ambos os testes, ou ao menos em um dos testes

ANEXO II
CÁLCULO DO ÍNDICE KAPPA

Retirado de SMITH (1995), página 150.

	POSITIVO	NEGATIVO
POSITIVO	a	b
NEGATIVO	c	d

$$\text{Concordância observada} = \frac{a + d}{a + b + c + d} = \frac{(\text{observação a}) + (\text{observação d})}{a + b + c + d} = \text{___} \%$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula a} = \frac{(a + b) \times (a + c)}{a + b + c + d} = \text{___}$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula b} = \frac{(c + d) \times (b + d)}{a + b + c + d} = \text{___}$$

$$\text{Probabilidade de concordância completa} = \frac{(\text{probabilidade a}) + (\text{probabilidade b})}{a + b + c + d} = \text{___} \%$$

$$\text{Kappa} = \frac{\text{Concordância observada} - \text{Probabilidade de concordância completa}}{100\% - \text{Probabilidade de concordância completa}} = \text{___}$$

Resultados:

0.0 = rara probabilidade de concordância

0.0 - 0.2 = fraca

0.2 - 0.4 = regular

0.4 - 0.6 = moderada

0.6 - 0.8 = substancial

0.8 - 1.0 = concordância quase perfeita entre os testes

+ 1.0 = concordância perfeita

ANEXO III
QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Nº da Requisição:

Nome do paciente:

Raça:

Idade:

Gênero:

Proprietário:

Data colheita:

Vet. Solicitante:

Clínica:

Acesso à rua ()

Não acesso à rua ()

Alimentação: Ração ()

Ração + carne ()

Resultados:

HAI positivo ()

negativo ()

RIFI positivo ()

negativo ()