

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

TESE

FATORES ASSOCIADOS A CÃES SORORREAGENTES A *Toxoplasma gondii* (NICOLLE E MANCEAUX, 1908) NICOLLE E MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE) DO MUNICÍPIO DE VOLTA REDONDA, MICRORREGIÃO DO MÉDIO PARAÍBA, RJ

JANAÍNA DA SOLEDAD RODRIGUES

Seropédica, RJ

2014



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

FATORES ASSOCIADOS A CÃES SORORREAGENTES A *Toxoplasma gondii*
(NICOLLE E MANCEAUX, 1908) NICOLLE E MANCEAUX, 1909
(APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE) DO MUNICÍPIO DE VOLTA
REDONDA, MICRORREGIÃO DO MÉDIO PARAÍBA, RJ

JANAÍNA DA SOLEDAD RODRIGUES

Sob a orientação do Professor

Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes

Co-orientador

Dr. Walter Flausino

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Área de concentração em Sanidade Animal.

Seropédica, RJ

2014

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

JANAINA DA SOLEDAD RODRIGUES

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Área de concentração em Sanidade Animal.

APROVADA EM 19/02/ 2014

DEDICATÓRIA

A Deus, que me dá forças para continuar seguindo.

A minha querida avó, que estará eternamente dentro do meu coração.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me proporcionar conviver com pessoas especiais e por me dar forças para seguir em frente, alheia as diversidades e obstáculos impostos.

Aos meus pais, Lea Aparecida da Soledad Rodrigues e Jair Antônio dos Santos Rodrigues que desde sempre, indiferentes às dificuldades, me deram as condições para realização dos meus sonhos e que sempre me serviram de exemplo de luta. Ao meu esposo Carlos Eduardo pela compreensão nos momentos de ausência e força nas horas difíceis. Aos meus familiares, meu padrasto Josimar Ananias de Souza, meus tios Jaime da Soledad, Alexandre Rodrigues, Ana Rodrigues e Sheila Soledad, meus primos Gabriel Soledad, Victor Hugo Rodrigues (*in memorian*), Alex Rodrigues e Isadora Soledad pelo carinho e apoio, e aos meus amigos pelo suporte emocional e incentivo durante todos esses anos.

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

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

A Professora Vera Lucia Teixeira de Jesus, pela imprescindível ajuda durante as análises estatísticas e pelas palavras de incentivo e calma em momentos cruciais.

Aos colegas e ex-colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Lianna Maria de Carvalho Balthazar, Cleide Domingues Coelho, Bruno Pereira Berto, Gilberto Flausino, Gisele Santos de Meireles, Landreani Ramirez Gonçalves, Caroline Spitz pela paciência e ajuda, em especial aos amigos Ulisses Stelmann e Gideão Galvão, pelos momentos de descontração e todo carinho e amizade ao longo desses anos. Ao colega Matheus Dias Cordeiro, pela ajuda durante a realização dos testes de ELISA.

Aos meus colegas do curso de pós-graduação, em especial aos amigos Rafaella Câmara Teixeira e Pedro Ivan Fazio Junior, pelo companheirismo, amizade e por todos os momentos que vivemos juntos.

A Prefeitura Municipal de Volta Redonda, Secretaria Municipal de Saúde, pelo apoio e incentivo para realização deste trabalho. A todos os amigos e colaboradores da Vigilância Ambiental que direta ou indiretamente contribuíram para realização do trabalho, ao então coordenador, Médico Veterinário Rogério José da Silva, aos colaboradores Rosimar Silva Germano Leal, Elso Assis Aguiar Júnior, Luiz Fernando Ozório e em especial aos amigos

Silmar Ferreira Gomes, Thiago Rodrigues e Ronaldo Almeida Ferreira pela ajuda indispensável durante a realização das coletas, e pela força e incentivo nos momentos mais difíceis.

Ao CNPq e a CAPES pela ajuda financeira durante a realização deste trabalho.

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

BIOGRAFIA

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

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

Após graduar-se em Medicina Veterinária em março de 2008, ingressou no mesmo mês no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Parasitologia Veterinária da UFRRJ, onde defendeu dissertação de Mestrado no ano de 2010.

Ainda em 2010, iniciou o curso de Doutorado, na mesma instituição, entretanto na área de concentração de Sanidade Animal.

Em março de 2011, foi aprovada em concurso público, na função de Médica Veterinária da Secretaria Municipal de Saúde, setor de Vigilância Ambiental, Centro de Controle de Zoonoses do município de Volta Redonda, onde em junho de 2013 assumiu a coordenação do referido setor, cargo o qual ocupa até a presente data.

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

Claude Bernard.

LISTA DE TABELAS

	Págs
Tabela 1. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e o sexo dos animais.....	32
Tabela 2. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e a alimentação utilizada.....	33
Tabela 3. Associação entre os cães reagentes <i>T. gondii</i> no ELISA e o hábito de ingerir carne crua	34
Tabela 4. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e a presença de gatos nas residências.....	35
Tabela 5. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e o acesso a rua.....	36
Tabela 6. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e sua relação com as raças.....	37
Tabela 7. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e a faixa etária dos mesmos	39
Tabela 8. Associação entre os cães reagentes a <i>T. gondii</i> no ELISA e a localização do bairro de residência do animal.....	40
Tabela 9. Modelo inicial da Análise Multivariada na avaliação da presença de cães sororreagentes a <i>Toxoplasma gondii</i> em Volta Redonda, RJ.....	41
Tabela 10. Modelo final da Análise Multivariada na avaliação da presença de cães sororreagentes a <i>Toxoplasma gondii</i> em Volta Redonda, RJ	42

LISTA DE FIGURAS

	Págs
Figura 1. Mapa da Região do Médio Paraíba, onde pode-se observar o município de Volta Redonda em rosa, na área central.....	23
Figura 2. Região da realização das coletas para o presente estudo, conforme as localidades indicada pelo círculo	24
Figura 3. Demonstração dos diferentes resultados obtidos no teste de padronização do ELISA, onde as diferentes cores representam as leituras, realizadas a cada 10 minutos	27
Figura 4. Placa de ELISA finalizada para leitura onde se observa a reação aos soros positivos ao antígeno de <i>Toxoplasma gondii</i>	29
Figura 5. Resultados de prevalência observados em cães na cidade de Volta Redonda sororreagentes a <i>Toxoplasma gondii</i>	31

LISTA DE QUADROS

	Pág.
Quadro 1. Anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em cães em diferentes localidades do mundo	15
Quadro 2. Anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em cães no Brasil	16 e 17

LISTA DE ANEXOS

	Págs
Anexo 1. Protocolo Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ	64
Anexo 2. Questionário com informações obtidas junto aos proprietários.....	65
Anexo 3. RODRIGUES, J. DA S.; MEIRELES G.S. DE; FLAUSINO W.; LOPES C.W.G. The japanense quail (<i>Corturnix japonica</i>): a new intermediated host for <i>Cystoisospora felis</i> (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae). Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 34, n. 1, p. 14-18, 2012.....	66
Anexo 4. JESUS, V.L.T.; PEREIRA, R.C.G.; MEIRELES, G.S. DE; RODRIGUES, J. DA S.; MEIRELES, G.S. DE; JORGE, J.L.P.; FLAUSINO, W. Brucelose suína no estado do Rio de Janeiro . Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 32, p. 101-104, 2010	71
Anexo 5. FLAUSINO, W.; JESUS, V.L.T.; BEZERRA, R.A.; ALBUQUERQUE, G.R.; JORGE, J.L.B.P.; RODRIGUES, J. da S.; MEIRELES, G. S. DE; PEREIRA, R.C.G. Ocorrência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em suínos de um sistema de criação comercial no estado do Rio de Janeiro. Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 32, p. 198-200, 2010.....	75

SUMÁRIO

	Págs
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1 Classificação.....	2
2.2. Histórico	3
2.3. Ciclo Biológico	3
2.4 Formas Infectantes	4
2.4.1 Taquizoitos	4
2.4.2 Bradizoitos	5
2.4.3 Esporozoitos	6
2.5 Fase Enteroepitelial	7
2.6 Fase Extra-Intestinal.....	8
2.7 Transmissão	9
2.8 Toxoplasmose em cães.....	13
2.9 Frequência de anticorpos anti-<i>Toxoplasma gondii</i> em cães	14
2.9.1 No mundo	14
2.9.2 No Brasil	14
2.10 Diagnóstico	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Local de desenvolvimento	22
3.1.1 Animais de Estudo.....	22
3.1.2 Município de coleta das amostras.....	22
3.2 Questionário	25
3.3 Coleta do sangue e obtenção do soro.....	25
3.4 Obtenção do antígeno solúvel.....	25
3.5. Padronização do ELISA Indireto.....	26
3.5.1 Concentrações ideais de antígeno e conjugado	26
3.6. O teste de ELISA como forma de diagnóstico	27
3.7. ELISA Indireto.....	28

3.8 Análise Estatística.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Prevalência de soropositividade observada	30
4.2 Fatores de risco associados á infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães.....	31
4.2.1 Sexo.....	31
4.2.2. Dieta	32
4.2.3. Ingestão de carne crua	33
4.2.4. Contato com gatos	34
4.2.5. Acesso à rua	35
4.2.6. Raça	36
4.2.7.Faixa Etária.....	38
4.2.8. Bairro	39
4.2.9. Outras variáveis	40
4.3. Análise Multivariada	41
5. CONCLUSÃO	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
7. ANEXOS	64

ABSTRACT

RODRIGUES, Janaína da Soledad. **Factors associated with *Toxoplasma gondii* seropositive dogs (NICOLLE AND MANCEAUX, 1908) Nicolle and Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in the city of Volta Redonda, microregion Middle Paraíba, RJ.** 2014. 77p. Thesis – Doctor in Veterinary Science, Animal Health. Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

Toxoplasmosis is a zoonosis of worldwide distribution, resulting from infection by *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan those humans, mammals and birds. Dogs have been focused, as indicators of environmental and human contamination, and due to the mechanical ability to act as hosts sporulated oocysts according to the habit of xenosmofilia. Thus, this study aimed to: (a) verify the occurrence of anti-*T. gondii* in dogs in the Middle Paraíba, Volta Redonda, State of Rio de Janeiro and (b) region determine the factors that are associated with natural infection with this etiologic agent in dogs in the region. To this end, serum samples from 297 dogs were collected in a region of the city, which were processed and tested for ELISA, the results were statistically evaluated for observation of possible risk factors related to *T. gondii*, comparing data obtained from applying a specific questionnaire. The prevalence of 43.8% positivity among the tested animals was observed. Factors such as diet, eating raw meat, access to the street, where the animal resided region, age and race were not statistically significant as risk factors for infection of *T. gondii* in the bivariate analysis, while sex and contact with cats were significant as risk factors for infection, with $p = 0.03$ and 0.00002 , respectively. When we performed a multivariate analysis, race and contact with cats became significant, with p values = 0.0334 and 0.0000 , respectively. Given our results, we can conclude that the likely source of infection in the dog studied in the city of Volta Redonda region is the ingestion of oocysts, since dogs that had contact with cats showed 3 times more likely to have seropositive *T. gondii*. Thus, it is understood that canine habit of Xesnomofilia should be better studied to clarify whether it may represent a risk factor for human infection.

Key Words: *Toxoplasma gondii*, ELISA, risk factors, Volta Redonda.

RESUMO

RODRIGUES, Janaína da Soledad. **Fatores associados a cães sororreagentes a *Toxoplasma gondii* (NICOLLE E MANCEAUX, 1908) Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) do município de Volta Redonda, microrregião do Médio Paraíba, RJ.** 2014. 77p. Tese – Doutor em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal. Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição cosmopolita, decorrente da infecção por *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório que acomete humanos, mamíferos e aves. Cães tem sido foco de estudo como indicadores de contaminação humana e ambiental, e também devido à capacidade de atuarem como hospedeiros mecânicos de oocistos esporulados em função do hábito da xenosmofilia. Com isso, o presente estudo teve como objetivos: (a) Verificar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em cães na região do Médio Paraíba, município de Volta Redonda, Estado do Rio de Janeiro e (b) determinar os fatores que estejam associados a infecção natural por esse agente etiológico em cães da região. Para tal, foram coletadas 297 amostras de soro de cães em uma região do município, que foram processadas e testadas para ELISA, tendo sido os resultados avaliados estatisticamente para observação dos possíveis fatores de risco ligados à infecção por *T. gondii*, confrontando dados obtidos a partir de aplicação de um questionário específico. Foi observada uma prevalência de 43,8% de positividade entre os animais testados. Fatores como dieta, ingestão de carne crua, acesso a rua, região onde o animal residia, faixa etária e raça não foram estatisticamente significativos como fatores de risco para infecção de *T. gondii* na análise bivariada, enquanto que o sexo e o contato com gatos mostraram-se significativos como fatores de risco para infecção, com valores de $p=0,03$ e $0,00002$, respectivamente. Ao realizarmos a análise multivariada, a raça e o contato com gatos foram as variáveis significativas, sendo os valores de $p=0,0334$ e $0,0000$, respectivamente. Frente aos resultados obtidos, pode-se concluir que a provável fonte de infecção canina na região estudada dentro do município de Volta Redonda é a ingestão de oocistos esporulados, uma vez que cães que tinham contato com gatos apresentaram 3 vezes mais chances de apresentarem soropositividade para *T. gondii*. Com isso, entende-se que o hábito canino de Xenosmofilia deve ser melhor estudado a fim de esclarecer se o mesmo pode representar fator de risco para infecção humana.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, ELISA, fatores de risco, Volta Redonda

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição cosmopolita, decorrente da infecção por *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1908) Nicolle e Manceaux, 1909, um protozoário intracelular obrigatório que acomete humanos, mamíferos e aves. Seu ciclo de vida é heteroxeno facultativo e dividido em duas etapas, o enteroepitelial e o extra-intestinal. Felinos em geral, são os hospedeiros definitivos, sendo estes os únicos responsáveis pela eliminação de oocistos no ambiente através das fezes. Mamíferos e aves são considerados hospedeiros intermediários, servindo como fonte de infecção através de presença de cistos de distribuição sistêmica.

Tradicionalmente, cães não têm importância na transmissão para humanos. No entanto, os cães tem sido foco de estudo como indicadores de contaminação humana e ambiental, e também devido à capacidade de atuarem como hospedeiros mecânicos de oocistos esporulados em função do hábito da xenosmofilia. Além disso, por serem domiciliados ou peridomiciliados, podem se alimentar de restos de alimentação humana, ou terem acesso à água e alimentos contaminados ao irem à rua de forma não controlada. Os cães rurais ou mesmo, os errantes podem desenvolver também o hábito da caça, sendo esse mais um fator associado à infecção. Assim, eles servem como sentinelas para prever fatores de risco ambiental, tanto para outros vertebrados, quanto para humanos, principalmente em regiões onde as condições de saneamento básico são precárias, onde a infecção por esse agente etiológico pode ser observada em animais e humanos com mais frequência. Condições essas observadas em países em desenvolvimento.

Com isso, o presente estudo teve como objetivos: (a) Verificar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em cães na região do Médio Paraíba, município de Volta Redonda, Estado do Rio de Janeiro e (b) determinar os fatores que estejam associados à infecção natural por esse agente etiológico em cães da região.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório, que de acordo com Levine et al. (1980) tem um complexo apical definido em suas formas infectantes conhecidas como zoítos. A classificação desse coccídio é baseada em Levine et al. (1980), Cox (1981) e Corliss (1994). Ao revalidar o gênero *Hyaloklossia* Labbé, 1896 através de biologia molecular, ou melhor, ao determinar a árvore de parcimônia máxima das sequências do SSU rRNA de diversas espécies de coccídios, Modry et al. (2001) determinaram a mesma distribuição quanto as subfamílias dentro da família Sarcocystidae a semelhança do apresentado anteriormente por Smith (1981) para a sua classificação. Sendo assim, a sua classificação segue a seguinte identificação com base na morfobiologia e em biologia molecular:

Império Eucariota Corliss, 1994
Reino Protozoa Goldfuss, 1818
Filo Apicomplexa Levine, 1970
Classe Conoidasida Leuckart, 1879
Ordem Eucoccidiorida Léger e Dubosq, 1910
Subordem Eimeriina Léger, 1911
Família Sarcocystidae Poche, 1913
Subfamília Toxoplasmatinae Biocca, 1959
Gênero *Toxoplasma* Nicolle e Manceaux, 1909
Espécie *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1908)
Nicolle e Manceaux, 1909

2.2 Histórico

A primeira descrição oficial deste parasito data de outubro de 1908, por Nicolle e Manceaux, no Instituto Pasteur de Tunis, onde eles descreveram um microorganismo em células mononucleares do baço e fígado de um roedor do norte da África, *Ctenodactylus gundi* (OLIVEIRA, 2002). Contudo, Alfonso Splendore, em julho do mesmo ano, na cidade de São Paulo, já havia visualizado formas semelhantes em cortes anatomopatológicos de coelhos e descrito as lesões e os corpúsculos parasitários presentes nas formas livre e intracelular, isolados e agrupados. Nos anos seguintes diversos relatos deste novo parasito surgiram em todo o mundo e em diferentes espécies animais, reforçando a tese de sua ampla distribuição. Os primeiros relatos não foram descritos como *Toxoplasma gondii* e sim como *Leishmania gondii* e *Leishmania cuniculi* respectivamente Nicolle e Manceaux, 1908 e por Splendore, 1908.

A primeira descrição da toxoplasmose em humanos foi feita por Wolf e Cowen (1937) onde conseguiram infectar experimentalmente animais com *T. gondii* a partir de tecido nervoso central com lesões características observadas em um natimorto. A primeira descrição de toxoplasmose em adultos foi documentada por Pinkerton e Weinman (1940) nos EUA.

Com o advento dos testes imunológicos, foi possível se ter uma idéia da prevalência de *T. gondii* não só em humanos como em animais. Desta forma, verificou-se que as infecções no ser humano geralmente são assintomáticas e que este protozoário estava amplamente distribuído na natureza, afetando mamíferos e aves (FELDMAN, 1982).

2.3 Ciclo Biológico

T. gondii possui um ciclo de vida heteróximo facultativo, sendo um protozoário coccídeo intracelular obrigatório. O ciclo deste agente etiológico se divide em duas fases bem distintas: a enteroepitelial, que leva à formação de merontes, gametas e oocistos, e extra-intestinal ou tecidual, levando a formação de clones e cistos (FRENKEL, 1973). Seu ciclo completo somente pode ser observado no hospedeiro definitivo, ou seja, em membros da família Felidae, enquanto que mais de 200 espécies de animais, entre mamíferos e aves são considerados hospedeiros intermediários (LEVINE, 1985).

As três formas infectantes de *T. gondii* são bradizoítos, presentes nos cistos teciduais, os taquizoítos que são formas proliferativas presentes em clones ou colônias, e os esporozoítos encontrados nos oocistos esporulados (TURNER, 1978).

T. gondii pode ser observado em vários tecidos de vertebrados endotérmicos (FRENKEL, 1972; MILLER et al., 1972), exceto nas hemácias; os taquizoítos ainda podem ser vistos, em líquidos orgânicos como saliva, leite, sêmen, urina e transudado peritoneal (DE ABREU et al., 2001; ARANTES et al., 2009). Por outro lado, pode desenvolver todas as fases do seu ciclo biológico em felinos na mucosa do intestino delgado (JEWELL et al., 1972; DUBEY, 1986; FRENKEL, 1986) sendo sua fase final, os oocistos, eliminados junto com as fezes.

A ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados ou a ingestão de cistos de carnes mal cozidas ou cruas são as duas principais vias de transmissão de *T. gondii*, inclusive para humanos (DUBEY; BEATTIE, 1988). Hospedeiros transportes como artrópodes e anelídeos podem estar envolvidos na cadeia epidemiológica deste protozoário, podendo veicular e transportar esse coccídio de um local para outro (FRENKEL, 1972; WALLACE, 1973; RUIZ; FRENKEL, 1980; HUGHES, 1985). Além disso, o cão também está associado a outra forma de transmissão mecânica conhecida como xenosmofilia. Essa forma de transmissão tem sido considerada como significativa na epidemiologia da toxoplasmose onde há cães e gatos (FRENKEL; PARKER, 1996; DA ROCHA et al., 2012).

2.4 Formas Infectantes

2.4.1 Taquizoítos

Os taquizoítos de *T. gondii* medem cerca de 2x6 µm e geralmente possuem a forma de meia-lua, com a extremidade anterior afilada e a extremidade posterior arredondada, estando o núcleo situado usualmente próximo à extremidade posterior ou centralmente. Essa forma infectante torna-se ovóide após a penetração na célula do hospedeiro e esta o isola, através da formação de um vacúolo parasitóforo (DUBEY, 1977).

Clones ou colônias terminais, conhecidos anteriormente como pseudocistos, são denominações dadas à célula do hospedeiro contendo numerosos taquizoítos, que se multiplicam e ao mesmo tempo comprimindo o núcleo da célula parasitada para a periferia (AMARO NETO et al., 1982).

Taquizoitos não suportam a permanência no estômago do hospedeiro por muito tempo dado a presença do suco gástrico, que os destroem com facilidade (JACOBS et al., 1960). No entanto, há relatos conflitantes a respeito da susceptibilidade dessas formas de infecção, taquizoitos, a digestão da pepsina ácida (HOFF et al., 1977; SHARMA; DUBEY, 1981; DUBEY, 1998).

Dubey (1998) ao avaliar a ação da tripsina e da pepsina sobre os taquizoitos de *T. gondii* *in vivo* e *in vitro* observou que no estudo *in vitro*, com cepa RH, a maioria dos taquizoitos morreram quando expostos a pepsina ácida por 30 minutos, porém, ocasionalmente alguns desses, extracelulares, sobreviveram à pepsina ácida por 2 horas. A infectividade dos taquizoitos por via oral pode ser explicada no caso de uma criança que se infectou pela ingestão do leite da mãe que tinha adquirido toxoplasmose recentemente (BONAMETTI et al., 1975), o que pode ter ocorrido em função do pH menos ácido ou mesmo em clones ou colônias eliminados entre os restos celulares observados no constituinte do leite materno. Situação esta observada em cabritos quando amamentados com leite de cabras na fase aguda da doença (DUBEY et al., 1980).

Taquizoitos são facilmente eliminados por dessecação, pelo etanol a 70% e os desinfetantes comumente usados (FRENKEL, 1973).

2.4.2 Bradizoitos

Estruturalmente e biologicamente estas formas diferem dos taquizoitos. Geralmente possuem o núcleo situado perto da extremidade posterior. Muitos grânulos PAS-positivos estão inclusos nos cistos de resistência e são mais frequentemente observados na fase crônica da enfermidade. Entretanto, os estádios de transição entre taquizoitos e vice-versa não estão bem definidos, tanto estruturalmente quanto antígenicamente (DUBEY, 1998).

O cisto é a forma de resistência no organismo. Constituído por uma membrana argirofílica que envolve vários bradizoitos, geralmente são subsféricos ou tomam a forma da célula do hospedeiro. O tamanho dos cistos é variável, podendo medir de 5µm quando ainda imaturos ou até 100 µm quando formados e bem definidos, podendo conter centenas de organismos no seu interior. A natureza parasitária da parede diferencia o cisto das colônias terminais. Os cistos são mais numerosos nas fases crônicas da infecção, quando o hospedeiro já adquiriu certa imunidade (AMATO NETO et al., 1982).

Quanto á resistência dos cistos pensa-se que eles não resistam aos processos de salga, cura ou aquecimento utilizado na preparação de carnes industrializadas. Também se admite que os cistos não suportam o congelamento, morrendo em temperaturas comumente alcançadas nos freezers domésticos (DUBEY, 1994), embora já se tenha assinalado a sobrevivência de cistos recuperados de cérebro e musculatura após o congelamento a -20°C por 16 dias (DUBEY; FRENKEL, 1973).

2.4.3 Esporozoitos

As formas eliminadas nas fezes dos felídeos são os oocistos. A esporulação ocorre dentro de um período de 1 a 4 dias, dependendo de condições de temperatura e umidade. Dentro de cada oocisto infectante, formam-se dois esporocistos, cada qual contendo em seu interior quatro esporozoitos (DUBEY et al., 1970). Dubey e Frenkel (1973) observaram que, em camundongos experimentalmente infectados com oocistos esporulados, alguns desses passavam através do intestino sem que ocorresse excitação e deste modo eram eliminados ainda infectantes nas fezes desses animais, favorecendo a contaminação de outros vertebrados endotérmicos.

Os oocistos não esporulados variam de subesféricos a esféricos, medindo de 10 x 12 µm, enquanto os oocistos esporulados são de subesféricos a elipsoidais, com medida de 11 x 12,5 µm (DUBEY et al., 1970; DUBEY 1973, 1976). Os esporocistos são elipsoidais, medindo cerca de 6 x 8,5 µm e os esporozoitos são alongados, curvando-se dentro de cada esporocisto e medindo cerca de 2 x 8µm quando livres (DUBEY et al., 1970).

Esses oocistos esporulados permanecem viáveis em água, sem perda importante de infectividade quando testados por prova biológica em camundongos, a 10°C, 15°C, 20°C e 25°C durante 200 dias. A 50°C eles permanecem infectantes por um período de até 1 hora. Em baixas temperaturas, os oocistos permanecem infectantes por até 13 meses a 0°C, não sendo com isso, o congelamento uma forma eficaz de eliminação de oocistos (DUBEY, 1998).

Os oocistos também são resistentes aos ácidos e álcalis e a maior parte dos desinfetantes. Porém são sensíveis á amônia, à dessecação e a temperatura de 55°C por 30 minutos (DUBEY et. al., 1970).

2.5 Fase Enteroepitelial

A fase intestinal do desenvolvimento do ciclo de vida de *T. gondii* só ocorre na mucosa intestinal de membros da família Felidae, que podem se infectar pela ingestão de qualquer estágio infectante, principalmente de bradizoítos presentes em cistos teciduais nos hospedeiros intermediários, modalidade de transmissão mais eficiente para o hospedeiro definitivo (DUBEY, 2006). A infecção através da ingestão de oocistos esporulados pelos felinos é benigna, com menor patogenicidade comparada às produzidas pela ingestão de bradizoítos e taquizoítos.

Pode haver variação de período pré-patente a depender do estágio infectante ingerido por esses animais. Os felídeos eliminam oocistos de *T. gondii* nas fezes de três a 10 dias após a ingestão de bradizoítos, perdurando a eliminação por mais de 20 dias; 13 dias após a ingestão de taquizoítos; e 18 a 49 dias após ingestão de oocistos esporulados, sendo esta eliminação a de menor período de tempo, em torno de 10 dias (DUBEY, 1998; TENTER et al., 2000). O período pré-patente não depende da quantidade de formas ingeridas, e sim na qualidade ou na forma ingerida, sendo o período pré-patente menor quando gatos consomem bradizoítos pelo carnivorismo (DUBEY, 2006). Sendo assim, a ingestão de cistos através do carnivorismo torna-se a infecção mais importante epidemiologicamente, pois felinos tem o hábito de caçar e ao ingerir sua caça com cistos sistêmicos o período pré-patente torna-se menor, facilitando com isso uma melhor dispersão das formas infectantes.

No intestino delgado ocorre liberação dos bradizoítos que penetram nas células da mucosa intestinal iniciando a fase enteroepitelial. Essa fase resulta na formação de até cinco tipos de merontes de *T. gondii* por reprodução assexuada contendo no seu interior os merozoítos. Ao final dão origem aos gamontes, que por sua vez, diferenciam-se em macro e microgametócitos. Inicia-se então, a reprodução sexuada, ocorrendo à fertilização do macrogametócito por um microgameta, dando origem ao zigoto. Em seguida, uma parede é formada ao redor deste zigoto, dando origem ao oocisto não esporulado. Estes ficam livres na luz intestinal por ruptura celular até alcançarem o meio ambiente juntamente com as fezes (DUBEY; THAYER, 1994).

2.6 Fase Extra-Intestinal

Nos hospedeiros intermediários, os cistos e/ou oocistos esporulados têm suas paredes externa rompidas por ação enzimática e as formas infectantes são liberadas no lúmen intestinal. Os esporozoítos provenientes dos oocistos e bradizoítos provenientes dos cistos estarão livres no trato digestivo, penetrarão nas células da lâmina própria do intestino delgado, e se multiplicarão por diversas fases de divisão, variando da divisão binária longitudinal a endogenia, resultando assim nos merozoítos. Esses se multiplicam rapidamente por meio de endodiogenia ou endopoligenia, rompem à célula mãe e se disseminam através da corrente sanguínea ou linfática pelo organismo do hospedeiro caracterizando a fase aguda da doença, quando são observados os sinais clínicos (DUBEY; THAYER, 1994; DUBEY et al., 1998). Os taquizoítos possuem a capacidade de parasitar vários tipos celulares, como fibroblastos, células reticulares, hepatócitos, pneumócitos, neurônios e células do músculo cardíaco (FRENKEL, 1973).

Após aproximadamente duas semanas, o hospedeiro adquire imunidade, que faz com que a taxa de multiplicação do parasito diminuía. Os taquizoítos passam a ser chamados bradizoítos, mantendo-se confinados em um cisto de parede elástica, no citoplasma das células infectadas. Estes cistos podem ser observados nos mais diversos tipos de tecidos, preferencialmente tecido muscular esquelético, cardíaco e tecido nervoso, representando a fase final do ciclo biológico no hospedeiro intermediário (DUBEY; THAYER, 1994; DUBEY et al., 1998). A localização desses cistos nos tecidos varia de acordo com as espécies de hospedeiros intermediários envolvidos. Desta forma, varia também a importância dos animais de produção como fonte de infecção, sendo suínos, ovinos e caprinos considerados a maior fonte de infecção para humanos (TENTER et al., 2000). Quando estes animais são consumidos ocorre à infecção de novos hospedeiros intermediários ou definitivos (DUBEY, 1994; DUBEY et al., 1998).

O ciclo extra-intestinal também ocorre no gato, simultaneamente ao ciclo que se passa no intestino. Assim os tecidos extra-intestinais dos gatos podem ser parasitados por taquizoítas e mais tarde por cistos (DUBEY; FRENKEL, 1972).

2.7 Transmissão

A transmissão através do carnivorismo e/ou canibalismo, que consiste na ingestão principalmente de cistos com suas formas infectantes, os bradizoítos é uma das mais comuns formas de transmissão de *T. gondii* (DUBEY, 2006). *Toxoplasma gondii* é adaptado para ser transmitido biologicamente por carnivorismo, principalmente para os gatos, enquanto que a transmissão pelos oocistos é mais eficiente em hospedeiros intermediários (DUBEY, 2010). Transmissão horizontal de *T. gondii* pode envolver também a transmissão por taquizoítos através de transfusão de sangue e derivados, transplantes de órgãos, ou leite não pasteurizado (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY et al. 1997; TENTER et al. 2000; DUBEY, 2006; DUBEY et al. 2009; DUBEY, 2010). Gatos se infectam após a ingestão de qualquer uma das três fases infecciosas de *T. gondii* (DUBEY, 2010).

Infecções provenientes da ingestão de oocistos esporulados em seres humanos são clinicamente mais graves do que infecções adquiridas pela ingestão de cistos teciduais (DUBEY, 2004). Seres humanos e animais são infectados principalmente pela ingestão de bradizoítos na forma de cistos teciduais em alimentos de origem animal ou oocistos esporulados, através de qualquer alimento ou água com contaminação fecal. A contaminação pela ingestão de água contaminada com oocistos esporulados tem sido relatada em surtos de toxoplasmose por todo o mundo, principalmente pela contaminação de reservatórios de água, além disso, relatos de toxoplasmose em mamíferos marinhos reforçam a importância de uma possível transmissão de *T. gondii* pela água (DE MOURA et al., 2006; LINDSAY; DUBEY, 2009).

Os oocistos são eliminados exclusivamente nas fezes de felídeos infectados, tendo papel importante na epidemiologia da infecção. A eliminação dos oocistos é interrompida após o desencadeamento da resposta imune, contudo, esta imunidade não persiste a vida toda do animal, assim uma segunda eliminação de oocistos pode ocorrer quando o animal ingerir novamente formas infectantes de *T. gondii* passados anos da infecção primária, ou ainda quando desafiados com coinfeção com *Cystoisospora felis* (TENTER et al., 2000; CHESSUM, 1972; DUBEY, 2010).

Após a primeira infecção, gatos que são mantidos dentro de casa podem eliminar grande número de oocistos no ambiente doméstico, colocando seus proprietários em risco. Gatos de rua ou os criados em fazendas tem a capacidade de contaminar o meio ambiente com oocistos, os quais podem infectar animais que por sua vez, serão abatidos para consumo humano. No entanto, oocistos não esporulados eliminados por gatos não são imediatamente

infectantes (TENTER et al., 2000). O hábito felino de enterrar suas fezes aumenta as condições de sobrevivência para os oocistos e torna o ambiente favorável para esporulação. Várias amostras de *T. gondii* têm sido isoladas do solo em todo o mundo, sendo essa uma possível fonte de contaminação humana através da jardinagem (ITO et al., 1975; COUTINHO et al., 1982; DUBEY, 1986; GRUNSPAN, 1996). Porém, manter gatos em casas ou em apartamentos não necessariamente aumenta o risco de contrair a infecção por *T. gondii*, se medidas preventivas forem efetivas e as fezes dos gatos forem removidas diariamente (TENTER et al., 2000).

Oocistos podem ser distribuídos no ambiente pelo vento, chuva e águas de superfícies ou mesmo em alimentos (DUBEY; BEATTIE, 1988; BUXTON, 1990), propagados por minhocas, invertebrados coprófagos ou por esterco (DUBEY; BEATTIE, 1988), e podem permanecer infectantes por mais de 19 dias no intestino de baratas, consideradas vetores mecânicos de *T. gondii* (CHINCHILLA et al., 1994), facilitando a dispersão da doença entre os animais e humanos (FRENKEL, 1972; WALLACE, 1973; RUIZ; FRENKEL, 1980; HUGES, 1985). Esta importante participação de invertebrados na transmissão da toxoplasmose é devido, principalmente aos hábitos de alimentação e comportamento biológico destes animais.

Insetos como baratas, após contato com fezes de gatos contaminados com oocistos de *T. gondii*, mantêm estes viáveis, sendo eficientes como vetores na transmissão mecânica deste agente etiológico e contaminam o meio ambiente, alimentos e o solo (WALLACE, 1972; WALLACE, 1973; CHINCHILLA et al., 1994). Além disso, os gatos podem se infectar devido aos hábitos predatórios, assim como em outros vertebrados, ingerindo baratas que tenham em seu intestino oocistos esporulados viáveis (WALLACE, 1972). As moscas, assim como as baratas, também são responsáveis por transmitir a toxoplasmose, atuando como vetores mecânicos, contaminando alimentos e o ambiente. Outros insetos como besouros, que se alimentam de matéria orgânica, além de serem transportadores de oocistos, através do corpo e patas, contaminam alimentos, água e prováveis animais que o utilizem como alimento, inclusive o próprio gato (SAITOH; ITAGAKI, 1990). Anelídeos contribuem para dispersão da toxoplasmose ao contaminarem aves e outros mamíferos silvestres que as utilizam como fonte alimentar (RUIZ; FRENKEL, 1980; BETTIOL et al., 2000).

O hábito de cães de se esfregar no solo, conhecido como xenosmofilia, também é apontado como uma forma de transmissão mecânica de oocistos de *T. gondii*, quando os mesmos realizam este ato em ambientes contaminados e, com o auxílio da estática, os oocistos se aderem ao pelo e pele desses cães. Essa fonte de infecção é importante não só na

contaminação dos cães, como também em humanos, pois ao acariciarem seus animais e levarem as mãos à boca, podem se contaminar sem necessariamente haver o contato feco-oral (LINDSAY et al. 1997; ETHEREDGE et al., 2004). Alguns estudos já correlacionam a presença de cães e a infecção humana por *T. gondii* (FRENKEL et al., 1995; ETHEREDGE et al., 2004). Essa via de transmissão tem se tornado alvo de diversos estudos, pois os cães não são apenas animais de companhia, mas têm sido utilizados para terapias assistidas com uso de animais, para pacientes com problemas oncológicos, SIDA e também indicada como adjuvante em tratamento de diversas doenças, como hipertensão arterial, diabetes, convulsões e alterações emocionais, como exemplos. (FRIEDMAN; SON, 2009).

Os taquizoítos têm o papel principal na infecção vertical de *T. gondii*, sendo esta uma das principais vias de transmissão do parasito. Estes são muito sensíveis no ambiente e morrem facilmente fora do hospedeiro (TENTER et al., 2000). São importantes também nos transplantes de órgãos (DUBEY; BEATTIE, 1988; HO-YEN, 1992), e podem ser encontrados em derivados de sangue e leite, principalmente de cabras e ovelhas (DUBEY; BEATTIE, 1988; JACKSON; HUTCHISON, 1989). Outros fluidos orgânicos como saliva, urina, lágrimas e sêmen podem conter taquizoítos (DUBEY; BEATTIE, 1988), mas ainda não há evidência concreta de transmissão horizontal para seres humanos por essas vias. Taquizoítos já foram isolados em ovos crus de galinhas, quando estas foram previamente inoculadas (JACOBS; MELTON, 1966).

Em relação à contaminação de sêmen por taquizoítos, Arantes et al. (2009), inocularam cães machos com *T. gondii*, verificaram a presença do parasito no sêmen desses animais e utilizaram para inseminação artificial de quatro cadelas negativas, que se tornaram soropositivas uma semana após. Duas cadelas tiveram reabsorção e morte fetal, e as outras duas levaram a gestação a termo. Os quatro filhotes que nasceram vieram a óbito e cistos de *T. gondii* foram isolados do cérebro de todos, comprovando dessa forma a transmissão sexual em cães e a transmissão vertical das fêmeas para seus filhotes.

Experimentalmente outro estudo já havia demonstrado a possibilidade de transmissão vertical em cães, utilizando fêmeas inoculadas durante a gestação com oocistos. Houve isolamento do parasito nas fêmeas e nos filhotes (BRESCIANI et al., 1999).

Outra evidência de transmissão vertical foi observada por Al-Qassab et al. (2009), que observaram *T. gondii* no cérebro de um filhote nascido de uma mãe previamente negativa. Esse isolamento associado à positividade encontrada na mãe por *Western-blotting* para IgM após o nascimento, demonstra que provavelmente ela se infectou durante a gestação e transmitiu ao filhote por via transplacentária.

Os bradizoítos estão dentro dos cistos em tecidos de animais e é outra importante fonte de contaminação. Os cistos são mais frequentemente observados em suínos, ovinos e caprinos, menos frequente em frangos, coelhos, cães e cavalos. Cistos são dificilmente encontrados em bovinos e bubalinos, embora altas taxas de anticorpos em bovinos sejam encontradas, evidenciando uma exposição contínua ao parasito (TENTER et al., 2000). Tem-se observado um declínio na soroprevalência de *T. gondii* nas últimas décadas em países desenvolvidos, sendo atribuído à introdução de sistemas modernos de criação, associado ao aumento de consumo de carnes congeladas e bem cozidas (TENTER et al., 2000; KORTBEEK et al., 2004; DIZA et al., 2005; JONES et al., 2007). Esta forma de transmissão é considerada a principal fonte de infecção humana pós-natal (TENTER et al., 2000), principalmente em carne suína nos EUA (DUBEY; SU, 2009).

A infecção por *T. gondii* durante a gravidez pode ser adquirida através da ingestão de carne mal cozida, água ou alimentos contaminados com as formas infectantes (DUBEY; FRENKEL, 1972; FRENKEL; PARKER, 1996; DUBEY et al., 1997; TENTER et al., 2000; DE MOURA et al. 2006; JONES; DUBEY, 2010). Se o primeiro contato ocorrer durante a gravidez, *T. gondii* pode ser transmitido verticalmente por taquizoitos que são passados para o feto através da placenta (TENTER et al., 2000). Essa fase caracteriza-se por ocorrer principalmente durante a fase aguda da doença, onde os taquizoitos livres na circulação sanguínea procedentes de suas formas proliferativas, os clones, passam da mãe para o feto, transpondo a barreira transplacentária, pois este é um dos poucos patógenos que possuem tal capacidade (TENTER et al., 2000; ROBBINS et al., 2012; GIVENS; MARLEY, 2008). Isto resulta em doença para o recém-nascido, com perda visual e auditiva, retardo mental e psicomotor, convulsões, alterações hematológicas, hepatoesplenomegalia, hipoplasia dentária, calcificações intracranianas e até mesmo a morte. Alguns problemas de saúde podem não ser aparentes até a segunda ou terceira década de vida (BERREBI et al., 1994; JONES et al., 2003; GOLDSTEIN et al., 2008; SIQUEIRA, 2013). A frequência e a gravidade da transmissão dependem da idade gestacional (DUNN et al., 1999; ROBBINS et al., 2012), raramente a transmissão ocorre em mulheres infectadas antes da gravidez ou durante a infecção crônica (DUBEY, 2010).

Em gatas e outros mamíferos hospedeiros intermediários, diversas lesões já foram evidenciadas em seus neonatos (DUBEY et al., 1996; AL-QASSAB et al., 2009; DUBEY et al., 1990) sendo que em ovelhas já foi constatada a formação de cistos no útero, com provável infecção do feto em caso de gestação (DUBEY, 1987).

A toxoplasmose adquirida durante a gestação pode constituir uma das formas de transmissão do parasito e apresenta especial relevância pelos danos causados ao desenvolvimento do feto.

2.8 Toxoplasmose em cães

A primeira descrição de toxoplasmose em cães ocorreu na Itália (MELLO, 1910), sendo que no ano seguinte um cão foi diagnosticado no Brasil no exame *post mortem*, através de análise de pulmão, baço, fígado e rins e de medula óssea, onde foram observados organismos viáveis tendo as características de *T. gondii* (CARINI, 1911). A infecção por *T. gondii* em cães é relativamente comum (LANGHAM; SHOLL, 1949; OTTEN et al., 1950; CAPEN; COLE, 1966; AHMED et al., 1983; SUTER et al., 1984; GREENE et al., 1985; PIMENTA et al., 1993; BERNSTEEN et al., 1999; MINEO et al., 2001; BRITO et al., 2002; GIRALDI et al., 2002; MORETTI et al., 2002; DUBEY et al., 2003a; DUBEY et al., 2003b; FRESCHI et al., 2005; TARLOW et al., 2005; DA SILVA et al., 2005; MORETTI et al., 2006; SEVÁ et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2009; PLUGGE et al., 2011; HOFFMANN et al., 2012; HEADLEY et al., 2013; SAKAMOTO et al., 2013). A toxoplasmose clínica é muito menos frequente, e usualmente é vista em animais jovens e associada a fatores imunossupressores ou infecções concomitantes (DUBEY, 2010), com sintomas clínicos inespecíficos ou inaparentes (DE ABREU, 2001). Alguns sintomas são inespecíficos como: anorexia, diarreia intermitente, hipertermia e letargia (DOMINGUES et al., 1998; HIGA et al., 2000). A patogenicidade é determinada por muitos fatores incluindo a virulência da cepa do parasito, volume do inoculo, o estágio do parasito, além da imunidade individual do hospedeiro (DUBEY, 2004).

Lesões oculares em cães são caracterizadas por ceratoconjuntivite, episclerite, esclerite, retinite, coroidite, uveíte anterior, neurite ótica, hiperplasia de epitélio ciliar e polimiosite (BUSSANICH; ROOTMAN, 1985; DUBEY, 1985; DAVIDSON, 2000; DUBEY et al., 2003b; MANDELL; HOLT, 2005; DUBEY; LAPPIN, 2006; TOWNSEND, 2008; SWINGER et al., 2009). A aparência da fundoscopia são lesões cinza enegrecidas na área tapetal e infiltrado branco algodinoso na área não-tapetal (DAVIDSON, 2000).

Alguns animais podem ter sinais dermatológicos como alopecia ou piodermite associados a alterações neurológicas (HIGA et al., 2000), como ataxia, andar em círculos, mioclonia, paralisia de membros, alterações de musculatura cervical, alterações de comportamento, tremores e convulsões (HIGA et al., 2000; DUBEY, LAPIN, 2006). Pode

ainda haver comprometimento do sistema respiratório (CAPEN; COLE, 1966; PIMENTA et al., 1993) com evolução para óbito por insuficiência respiratória em decorrência do quadro clínico de pneumonia, que se exterioriza com ou sem tosse (DUBEY, 2010), porém com presença principalmente de febre, dispnéia, estertores respiratórios, secreção nasal e ocular e linfadenopatia (BRESCIANI et al., 2001).

Durante a gestação, a toxoplasmose pode acarretar abortamento, reabsorção fetal ou o nascimento de filhotes enfermos, principalmente em função da transmissão transplacentária (BRESCIANI et al. 1999; ARANTES et al. 2009; AL-QASSAB et. al., 2009).

2.9 Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães e fatores associados

2.9.1 No Mundo

Nos estudos destacados no Quadro 1, realizados em diversos países do mundo, pode-se observar uma grande variação de percentual de positividade entre a população canina, de 9,4 a 48,5%, entretanto, segundo Tenter et al. (2002) esta variação pode ser de 8% a 85%.

2.9.2 No Brasil

No Brasil os percentuais de cães positivos para *T. gondii* são considerados altos, variando de 21,3% a 91%, a depender do foco populacional do estudo (Quadro 2).

No município de São Paulo, foi realizado estudo com 210 cães provenientes do ambulatório clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde 151 (72%) dos animais foram reagentes no teste RIFI. Os autores não observaram diferenças significativas entre a infecção e o sexo, concluindo que ambos são igualmente susceptíveis. Em relação à idade, animais com dois ou mais anos de idade apresentaram maior proporção de resultados positivos, sendo que cães com até seis anos apresentavam maior frequência de anticorpos, concluindo que estes tinham se infectado logo no início da vida, atingindo a frequência máxima de anticorpos aos dois anos e com declínio a partir do sétimo, sugerindo que anticorpos detectados seriam apenas residuais ou que existiria uma susceptibilidade maior em animais mais jovens (ISHIZUKA et al., 1974).

Quadro 1. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães em diferentes localidades do mundo.

Local	Prova sorológica	População estudada	Número de		Referência
			Animais	Reagentes (%)	
Taiwan	LAT	Cães de caça	51	10 (19,6)	Fan et al., 1998
Áustria	RIFI	Cães de clínicas veterinárias e laboratórios	242	63 (26)	Wanha et al., 2005
Colômbia	MAT	CCZ	309	52 (16,8)	Dubey et al., 2007b
Tailândia	LAT	Cães errantes	427	40 (9,4)	Jittapalaong et al., 2007
Taiwan	LAT	Abrigo de cães	1412	284 (20,1)	Tsai et al., 2008
Grenada	MAT	Diversa	107	52 (48,5)	Dubey et al., 2008b
Malásia	RIFI	Cães de clínicas veterinárias	135	13 (9,6)	Chandrawathani et al., 2008
Coréia	PCR	Cães de guarda ou caça	138	64 (46,3)	Lee et al., 2008
México	MAT	Abrigo de cães	150	68 (45,3)	Dubey et al., 2009
Iran	ELISA	Cães domiciliados e errantes	90	53 (58,9)	Shadfar et al., 2012
China	ELISA	Hospital veterinário e abrigos	121	42 (34,7)	Zhu et al., 2012
Iran	ELISA	Cães domiciliados e cães de pastoreio	548	151 (27,55)	Hosseininejad, 2011

Quadro 2. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães no Brasil.

Local	Prova sorológica	População estudada	Número de		Referência
			Animais	Reagentes (%)	
São Paulo, SP	RIFI	CCZ	1256	801 (63,8)	Ishizuka; Yasuda, 1981
Campinas, SP	RIFI	Campanha de vacinação	657	598 (91)	Germano; et al. 1985
Belo Horizonte, MG	RIFI	HV-UFGM	243	114 (47,3)	Guimarães et al., 1992
Londrina, PR	RIFI	HV-UEL	254	91 (75,98)	Freire et al., 1992
Londrina, PR	RIFI	HV-UEL	312	73 (23,4)	Navarro et al., 1997
Uberlândia, MG	HAI	Campanha antirábica	218	115 (52,7)	Cabral et al., 1998
Jaguapitã, PR	RIFI	Área rural	189	159 (84,1)	Garcia et al., 1999
Jaboticabal, SP	ELISA RIFI	HV-UNESP com sintomatologia neurológica	203	ELISA: 165 (81,28) RIFI: 73 (35,96)	Higa et al., 2000
Salvador, BA	RIFI	CCZ	225	143 (63,5)	Barbosa et al., 2003
Norte PR e São Paulo-SP	MAT	PR – fazenda – 134 SP – CCZ – 610 SP – domiciliados – 500	1244	46 (34,3); 193 (31,6) e 26 (5,2) respectivamente Total: 265 (21,3)	Souza et al., 2003
Monte Negro, RO	RIFI e MAT	Domiciliados	157	RIFI: 120 (76,4) MAT: 102 (64,9)	Canon-Franco et al., 2004
São Paulo, SP	ELISA e HAI	CCZ	200	ELISA: 101 (50,5) HAI: 76 (38)	Meireles et al., 2004

(Continua)

Quadro 2. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães no Brasil.(continuação)

Local	Prova sorológica	População estudada	Numero de		Referência
			Animais	Reagentes (%)	
Uberlândia, MG	ELISA	HV-UFU (213); Clínica Particular (62); CCZ (94)	369	57 (26,8); 11 (17,7); 44(46,8); respectivamente Total: 112 (30,3)	Mineo et al., 2004
Campina Grande, PB	RIFI	Campanha antirábica	286	129 (45,1)	Azevedo et al., 2005
Guarapuava, PR	RIFI	Rural	24	5 (28,8)	Romanelli et al., 2007
Paulista, Amaraji e Garanhuns, PE	RIFI	Domiciliados	170	98 (57,6)	Figueiredo et al., 2008
Jauru , MS	RIFI	Rural	61	54 (88,5)	Santos et al., 2009
Lages e Balneário Camboriú, SC	RIFI	Domiciliados	400	89 (22,3)	Moura et al., 2009

Mais tarde, no município de Campinas, também se utilizando RIFI, foram avaliados 657 animais selecionados ao acaso durante a vacinação antirrábica. Dos animais estudados, 91% foram positivos para *T. gondii* a uma diluição de pelo menos 1:16. Os autores não observaram diferenças significativas entre a infecção e os sexos. Quando consideraram os grupos etários, observaram que até mesmo os animais mais jovens, classificados como menores de 1 ano, foram reagentes, não sendo possível estabelecer uma idade limiar a partir da qual a porcentagem de infectados seria significativamente maior. Neste estudo, os autores consideraram que para o cão, além dos alimentos vegetais contaminados com oocistos e os de origem animal, está envolvido o solo contaminado e, roedores infectados, ingeridos parcial ou totalmente como consequência do hábito de carnivorismo exercido pela espécie (GERMANO et. al., 1985).

Em Belo Horizonte, MG, um estudo com 243 cães, no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais, demonstrou 47,3% de reatividade (GUIMARÃES et. al., 1992). Os autores se limitaram a comunicar o fato da toxoplasmose ser endêmica na capital e relatar variações nas frequências de cães reagentes de acordo com a faixa etária, mas não examinaram se as diferenças eram estatisticamente significativas.

No Paraná, Garcia et al. (1999) determinaram a prevalência da toxoplasmose em 345 humanos, 163 gatos e 189 cães localizados na zona rural do município de Jaguaupitã através de RIFI. Uma prevalência de 65,8% foi observada em humanos, 73% em felinos e 84,1% em cães. Considerando a faixa etária, cães com menos de oito meses apresentaram uma prevalência menor que animais mais velhos. Em relação ao sexo não houve diferença significativa. Os autores também pesquisaram a correlação de títulos entre as espécies canina e felina, porém não observaram correlação positiva significativa. Por outro lado, entre as espécies canina e humana foi observada correlação positiva significativa. Com base nesses resultados, os autores concluíram que felinos estavam se infectando por vias diferentes de transmissão que os cães, sendo os gatos por seus hábitos alimentares carnívoros e os cães através de sobras de alimento humano. Já a relação positiva entre cães e humanos foi considerada pelos autores como resultando do fato destas espécies compartilharem a mesma via de transmissão: a alimentação.

Na região Nordeste, estudos foram realizados na Paraíba e na Bahia. Na Bahia foram coletadas amostras de 225 cães provenientes do CCZ da cidade de Salvador e 143 amostras (63,55%) foram positivas pela RIFI. Além de fatores ligados a hábitos de

higiene, educação, presença de felinos e questões culturais, os autores associam também essa alta prevalência a fatores climáticos, saneamento básico e falha nas leis que regem as responsabilidades e deveres dos proprietários e do Estado em relação a animais de companhia, podendo ocorrer ampla variação a depender da área e população estudada (BARBOSA et al., 2003).

Na Paraíba, além da prevalência, foram estudados também possíveis fatores de risco associados à infecção. A população estudada foram cães provenientes da campanha de vacinação antirrábica na cidade de Campina Grande, totalizando uma amostra de 286 animais. Destes, 129 animais (45,1%) foram positivos para RIFI. Na entrevista aplicada, foram avaliados sexo, raça, idade e hábitos ambientais, como acesso à rua e contato com outros animais. Os fatores de risco associados foram presença de gatos na residência e idade (AZEVEDO et al., 2005).

Alguns autores observaram em seus estudos, que animais errantes capturados pelos Centros de Controle de Zoonoses (CCZ), de áreas rurais ou simplesmente que tem acesso à rua, tem maior chance de se infectar com o parasito do que animais domiciliados, sendo essa diferença atribuída ao modo de vida, aumentando a chance de exposição (SOUZA et al., 2003; CANON-FRANCO et al., 2004; MINEO et al., 2004; MOURA et al., 2009).

A idade dos cães muitas vezes tem se mostrado um fator de risco importante, pois quanto mais velhos, maior a chance de exposição ao parasito (BARBOSA et al., 2003; CANON-FRANCO et al., 2004; AZEVEDO et al., 2005).

Em alguns casos a alimentação mostrou-se com importância estatisticamente significativa, pois trabalhos realizados demonstram que animais que recebem comida caseira apresentam maior chance de serem infectados, podendo ser mais expostos aos cistos contendo bradizoítos (MOURA et al., 2009).

O convívio com gatos aumentando o risco de infecção para cães é divergente. Azevedo et al. (2005) e Moura et al. (2009) observaram que cães que conviviam com gatos tinham uma chance 2,05 maior de serem infectados, porém Bresciani et al. (2007) concluíram que este não é um fator de risco para a infecção em cães.

2.10 Diagnóstico

Apesar dos anticorpos desempenharem um papel insuficiente na defesa sistêmica, no entanto são essenciais para o diagnóstico da doença, uma vez que os testes sorológicos utilizados no diagnóstico da toxoplasmose assinalam a reação antígeno-anticorpos para a presença de *T. gondii* (DUBEY; LAPPIN, 2006). O primeiro teste para diagnóstico da toxoplasmose humana foi a reação de Sabin-Feldman, sendo confiável tanto na fase aguda quanto na fase crônica, se baseando na união de anticorpos específicos à superfície dos antígenos de taquizoítos vivos, com conseqüente fixação de complemento e tornando o parasito incapaz de reter o azul de metileno, indicando anticorpos no soro pela observação de taquizoítos mal corados ou “fantasmas” (SABIN; FELDMAN, 1948). Atualmente para a detecção de anticorpos através de exames sorológicos da toxoplasmose canina, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é o teste mais utilizado, mas ELISA, hemaglutinação indireta (IHA) e o teste de aglutinação modificada (MAT) também são indicados em avaliações epidemiológicas (BRESCIANI et al., 2008).

A introdução do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para anticorpos IgG e IgM trouxe um grande avanço para o diagnóstico da doença (CAMARGO et al., 1977). No teste ELISA, o antígeno solúvel é absorvido numa superfície de plástico (placas de microtitulações) e a reação pode ser objetivamente avaliada por quantificação da cor que resulta e permite avaliar um grande número de soros rapidamente (DUBEY, 2010).

O teste Western blotting pode ser utilizado como ajuda para os testes sorológicos convencionais. Neste método, a transferência por eletroforese de proteínas a partir de géis de poliacrilamida migra para folhas de nitrocelulose, isso resulta em transferência quantitativa de proteínas permitindo análise de uma grande variedade de proteínas, onde o soro a ser testado reage com os antígenos de *T. gondii* na membrana, onde ocorre a migração e marcação conforme seu peso molecular e os padrões de bandas resultantes são comparados com controles de pesos moleculares conhecidos (LAEMMLI, 1970; TOWBIN et al., 1979; FLAUSINO et al., 1998). A utilização do Western blotting é importante em cães com sintomatologia compatível com toxoplasmose, porém com resultados conflitantes entre os métodos sorológicos comumente utilizados, embora não apresente 100% de segurança (FRESCHI et al., 2005).

Estudos comparativos entre os diversos testes têm mostrado que ocorrem pequenas diferenças entre o desempenho dos mesmos. (BRESCIANI et al., 2008).

Silva et al. (1997) testaram os títulos de anticorpos anti-*T. gondii* em cães que apresentavam sinais clínicos da doença infecciosa para os testes de RIFI, HAI e ELISA. Os resultados obtidos por esses autores mostraram correlação significativa entre todos os testes. Domingues et al. (1998) e Higa et al. (2000) comparando a RIFI com ELISA verificaram uma maior sensibilidade do ELISA. Hosseinejad et al. (2009) encontraram sensibilidade de 94,52% e especificidade de 93,60% do ELISA quando comparado ao RIFI. Quando ELISA foi comparado com IHA, esta demonstrou 51,5% de sensibilidade e 75,80% de especificidade, usando o ELISA como teste ouro (MEIRELES et al., 2004).

Canon Franco et al. (2003) avaliaram a performance do MAT em comparação a RIFI e encontraram 85% de sensibilidade e 100% de especificidade. Porém a diluição utilizada foi de 1:25, e os autores relataram que a utilização de diluições menores permitam aumentar a sensibilidade a valores próximo a 100%. Já Macri et al. (2009), encontraram a mesma sensibilidade, porém com especificidade de 97,8%, mostrando que o MAT também pode ser um bom teste.

Os exames sorológicos não são os únicos realizados para detecção de *T. gondii*, apesar de serem os mais utilizados. Durante a doença aguda, exames citológicos podem identificar os taquizoítos a partir de tecidos e fluidos corpóreos. A detecção ainda pode ser realizada por ensaios biológicos ou através da inoculação em cultura de células, e pela Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) (DUBEY; LAPPIN, 2006).

A PCR também pode ser utilizada como método de diagnóstico, porém geralmente não é utilizado comumente em avaliações epidemiológicas pela complexidade e custo, porém seria útil para detecção do protozoário em estágio inicial da doença em cães e gatos assintomáticos (LEE et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de desenvolvimento

3.1.1 Animais de Estudo

Este trabalho atendeu aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais, de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal (COBEA, 2012), atendendo a Resolução 714 de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, protocolo n° 270/2012-Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ (Anexo 1).

3.1.2 Município de coleta das amostras

Este estudo foi desenvolvido no município de Volta Redonda, localizado centralmente na Região do Médio Paraíba, no Estado do Rio de Janeiro (Figura 1). Volta Redonda possui uma população de aproximadamente 250.000 habitantes, e encontra-se distante cerca de 130 km da capital Rio de Janeiro, o clima é quente e úmido com temperatura média de 24°C. É uma cidade urbanizada, que não possui, segundo critérios do IBGE, área rural, com uma economia basicamente de serviços e indústria, em especial para a Usina Presidente Vargas (Companhia Siderúrgica Nacional – CSN), uma das maiores metalúrgicas da América Latina.

O presente estudo foi realizado na região sul do município de Volta Redonda (Figura 2), local de um surto de Leishmaniose Visceral no município nos anos de 2011/2012. As amostras foram coletadas convenientemente nas localidades onde ocorreu tal surto.

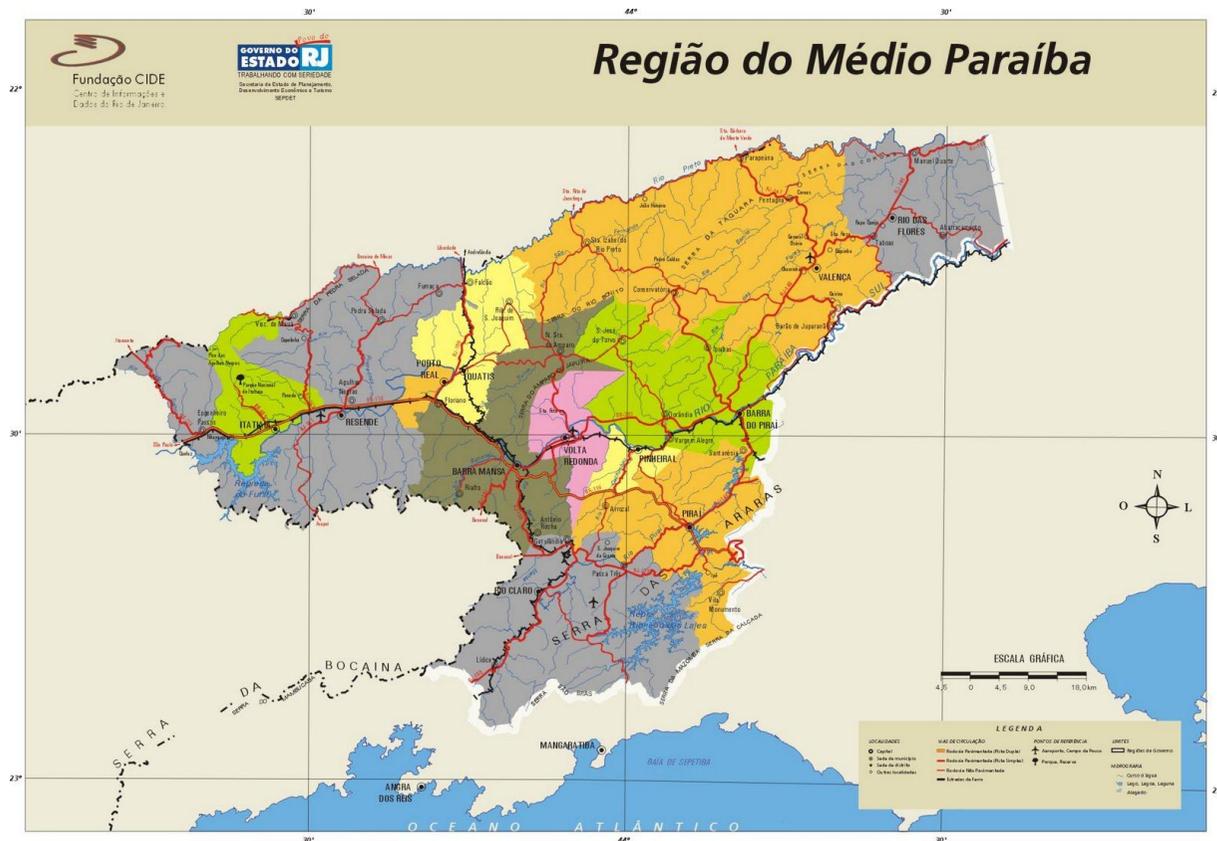


Figura 1. Mapa da Região do Médio Paraíba, onde se pode observar o município de Volta Redonda em rosa na área central.

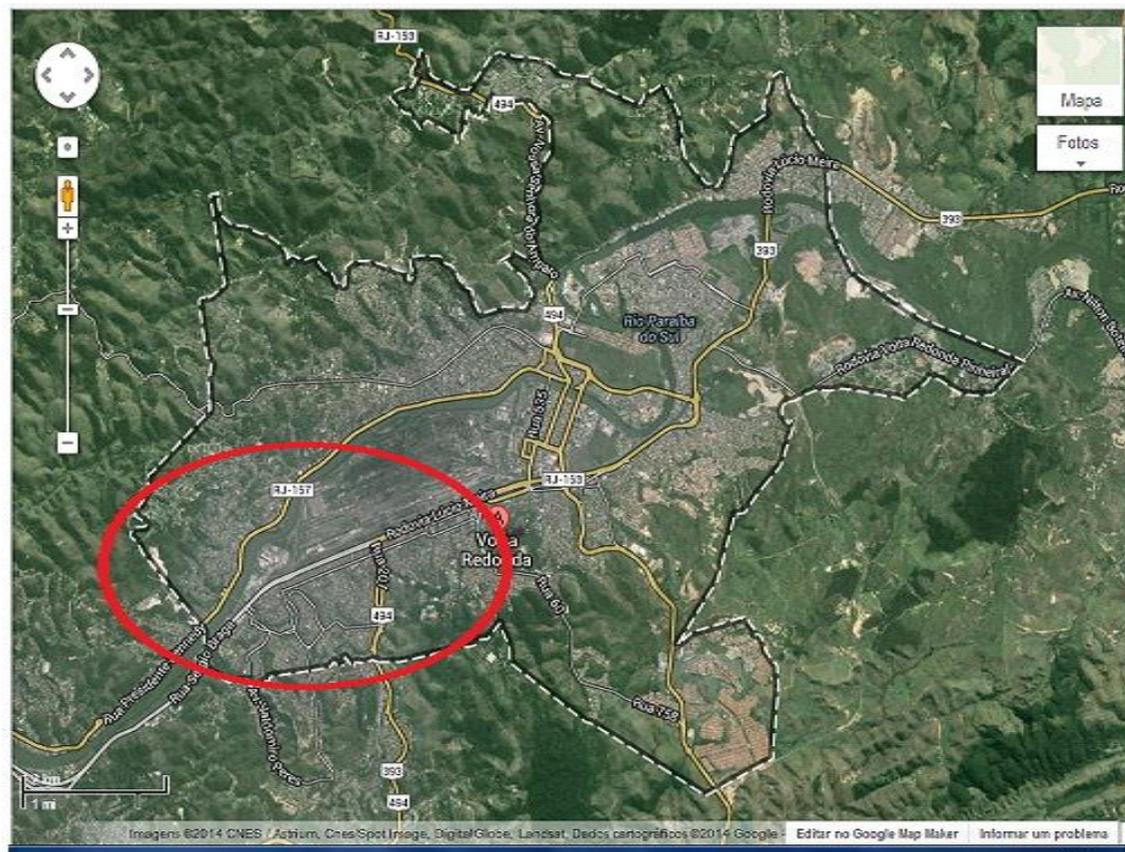


Figura 2. Região da realização das coletas para o presente estudo, conforme as localidades indicadas pelo círculo.

3.2 Questionário

Previamente à coleta de sangue dos animais, os proprietários ou responsáveis pelos cães tomaram conhecimento sobre a importância do estudo, e após a autorização foi aplicado um questionário, com objetivo de avaliar o manejo, presença e profilaxia para enfermidades (Anexo 1). Por pertencerem à uma pesquisa de Leishmaniose Visceral canina realizada pelo município de Volta Redonda, foi obtida uma autorização da por escrito da Secretária Municipal de Saúde para utilização dos dados contidos no questionário.

3.3 Coleta do sangue e obtenção do soro

Foram coletadas um total de 297 amostras de soro de cães provenientes de diferentes localidades do município de Volta Redonda. O sangue foi retirado por venopunção da cefálica, com agulha 27 x 8 mm para tubos de ensaio sem anticoagulante, com capacidade para 5 ml cada um. Em seguida esses tubos foram identificados e armazenados em uma caixa isotérmica, e levados ao CCZ para processamento.

No CCZ, cada tubo era centrifugado 500 rpm por 10 minutos, para separação do soro. Estas amostras foram acondicionadas em criotubos de 2,0 mL, identificados e armazenados a uma temperatura de -20° C até a realização dos exames sorológicos.

3.4 Obtenção do antígeno solúvel

Para obtenção do antígeno, foi utilizada a cepa RH de taquizoítos de *T. gondii*, gentilmente cedida pelo Professor Doutor George Albuquerque, UESC, Ilhéus, BA, na concentração de 1×10^5 taquizoítos para cada mL de suspensão.

Este material foi submetido à sonicação a 60hz em 30 sessões de 30 segundos, com intervalos de 30 segundos entre cada uma. Em seguida, este material foi analisado para verificar se ocorreu a lise de todos os taquizoítos presentes na suspensão.

Esta suspensão purificada de antígenos foi filtrada em filtro de 45 mm e após esta etapa foi realizada a dosagem de proteínas do antígeno, utilizando a técnica Lowry (LOWRY et al., 1951), onde apresentou a concentração de 3,0 mg/mL, considerada uma concentração satisfatória para sensibilização das placas de ELISA que foram utilizadas.

3.5. Padronização do ELISA Indireto

Para a padronização da concentração ideal de antígeno e conjugado a ser utilizado no teste, uma placa de ELISA foi sensibilizada e foram utilizadas, três diferentes diluições de antígeno e duas de conjugado, utilizando-se duas amostras de soro sabidamente reagente, para que pudesse ser realizada uma comparação e posterior determinação dos valores a serem utilizados durante o estudo, de forma a otimizar os reagentes e observar os melhores resultados.

3.5.1 Concentrações ideais de antígeno e conjugado

Após a realização da leitura da placa contendo as diferentes concentrações de antígeno e conjugado utilizando-se duas amostras diferentes, observou-se que a amostra 1 ao ser testada com o 2,5 µg/mL de antígeno com o conjugado diluído em 1:9000 teve o pior resultado, sendo o que obteve menor valor de conversão após 30 minutos de reação. Contudo, a amostra 2, ao ser testada com a concentração de antígeno de 10 µg/mL e conjugado em 1:4500 mostrou uma alta taxa de conversão, sendo considerada o melhor cenário para realização do teste ELISA utilizando-se o antígeno produzido. Estes resultados corroboram com o descrito por Domingues et. al. (1998), onde o mesmo descreve como sendo ideal a concentração de 10 µg/mL de antígeno de *Toxoplasma gondii* para realização de ELISA.

No gráfico podemos observar as taxas de conversão de acordo com as diferentes concentrações de antígeno cruzadas com as duas amostras utilizadas e as duas concentrações de conjugados testados (Figura 3).

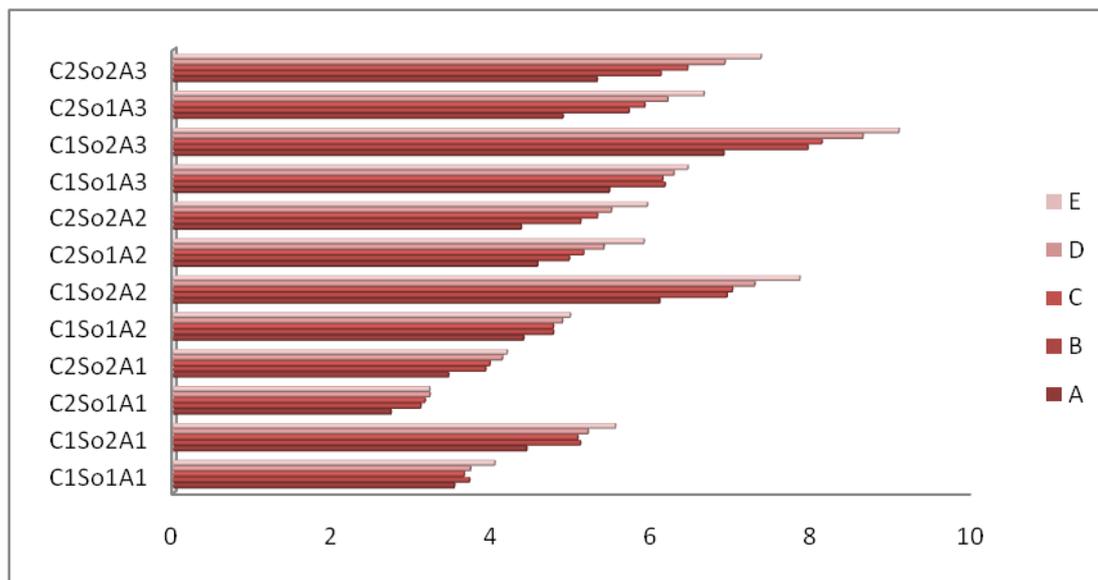


Figura 3. Demonstração dos diferentes resultados obtidos no teste de padronização do ELISA, onde as diferentes cores representam as leituras, realizadas a cada 10 minutos.
Legenda: C1 diluição de conjugado 1:4500; C2 diluição de conjugado 1:9000; So1 Soro positivo 1; So2 Soro positivo 2; A1 concentração do antígeno de 2,5 mg/mL; A2 concentração do antígeno de 5,0 mg/mL; A3 concentração do antígeno de 10 mg/mL

3.6 O teste de ELISA como forma de diagnóstico

O ELISA tem boa especificidade e sensibilidade, com a vantagem de ser prático e seguro para ser usado principalmente quando se utiliza uma grande quantidade de amostras. Isto se faz útil quando se utiliza durante a determinação de um agente etiológico, neste caso *T. gondii* em animais oriundos de levantamento sorológico realizado em 2011/2012, frente a um surto de Leishmaniose Visceral, realizado pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Volta Redonda.

3.7 ELISA Indireto

Para a realização do teste de ELISA, as placas *Corning* foram sensibilizadas com o antígeno na concentração de 10 µg/mL (concentração ideal obtida a partir da padronização), diluindo-o em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6. Foram colocados 100 µL/well de solução. Em seguida, as placas foram incubadas “overnight” em câmara úmida a 4°C em BOD.

No dia seguinte, as placas foram lavadas por três vezes utilizando-se solução de PBS Tween 20. Após a lavagem, cada placa era seca com a utilização de papel filtro, onde as mesmas eram “batidas” sobre uma superfície rígida de forma vigorosa, com a finalidade de não se deixar bolhas no fundo dos poços. Esse processo de lavagem foi realizado após cada etapa de incubação das placas. Para o bloqueio, foram colocados 200 µL/well de solução PBS Tween 20+ 6% leite em pó, sendo as mesmas incubadas em câmara úmida a 37°C por uma hora e trinta minutos.

Para a utilização dos soros, os mesmos foram diluídos em PBS Tween 20 adicionado de 5% de leite em pó, na diluição de 1:400, e posteriormente foram distribuídos nos poços em duplicata, utilizando-se 100 µL /well e sendo em seguida incubados em câmara úmida à 37°C, durante 1 hora e 30 minutos.

Em seguida, foi adicionado o conjugado anti-canino (SIGMA- Sigma anti-dog IgG Alkaline Phosphatase Conjugate) diluído em PBS Tween 20, na proporção de 1:4500, colocando 100 µL/well e incubado em câmara úmida, a 37°C, durante 1 hora e 30 minutos.

Para indução da reação colorimétrica, foram diluídos dois comprimidos de 5 mg de P-nitrofenilfosfato em 10 mL de Tampão dietanolamina, utilizando-se um frasco escuro para evitar a reação antes do tempo determinado. Após a última lavagem da placa, foi adicionado 100 µL/well do substrato.

Para finalizar, foi realizada a leitura da placa (Figura 4) após incubação à temperatura ambiente durante aproximadamente 25 minutos.

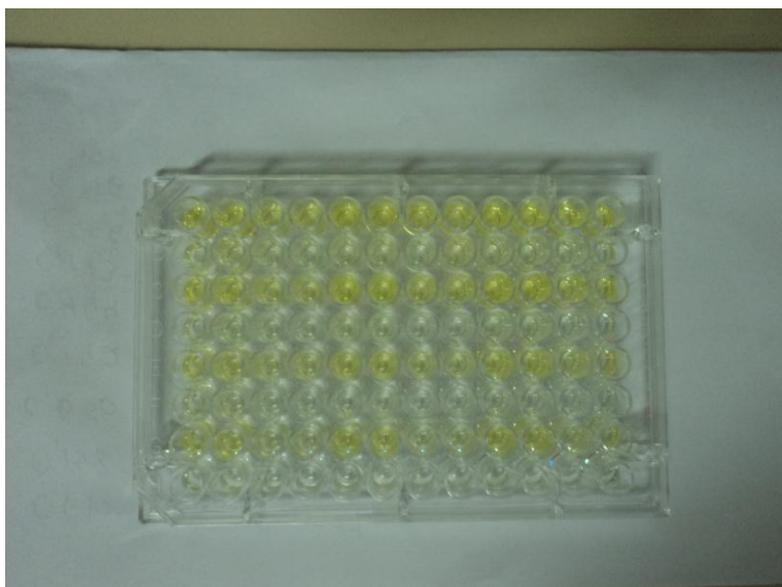


Figura 4. Placa de ELISA finalizada para leitura onde se observa a reação aos soros positivos ao antígeno de *Toxoplasma gondii*.

3.8 Análise Estatística

O cálculo da amostragem foi determinada com o programa Epi Info versão 3.5.1 (www.cdc.gov) perfazendo um total mínimo de 285 amostras. Além disso, para a verificação da associação entre as variáveis estudadas, foram utilizados os testes estatísticos do Qui-quadrado (χ^2) e o exato de Fisher, para avaliar a dispersão das frequências, também utilizando-se o programa Epi Info versão 3.5.1 (www.cdc.gov). Foram consideradas variáveis com diferença significativa as que obtiveram valor de $p \leq 0,05$.

Em seguida, o programa Bioestat foi utilizado para executar a correlação de Spearman, a fim de verificar a multicolinearidade entre as variáveis independentes ($\geq 0,80$). As variáveis com $p \leq 0,20$ na análise bivariada e $\geq 0,80$ na correlação de Spearman foram incluídas na análise multivariada por regressão logística.

As variáveis selecionadas para análise multivariada foram confrontadas também utilizando-se o programa Epi Info versão 3.5.1 (www.cdc.gov), onde o nível exigido de significância para um fator a ser considerado como associados no modelo final foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Prevalências de soropositividade observada

Foi observada a prevalência de 43,8% (Figura 10) nos animais estudados. Esse resultado é similar ao encontrado por Guimarães et. al. (1992) e Azevedo et. al. (2005), que descreveram prevalências de 47,3% em Belo Horizonte, MG e 45,1% em na Paraíba, respectivamente.

Quando analisou-se as variações das prevalências encontradas em diferentes estudos realizados no Brasil, notou-se uma discrepância muito grande. Essa variação pode ser em função das diferentes técnicas utilizadas, que variam em função da sensibilidade do teste, e também da procedência dos animais em questão. Valores inferiores ao encontrado foram descritos por Navarro et al. (1997) no Paraná com 23,4%, Souza et al. (2003) em fazenda no norte do Paraná e na cidade de São Paulo com 21,3%, Romanelli et al. (2007) no Paraná com 28,8% e por Moura et al. (2009) em Santa Catarina com 22,3%, enquanto que valores superiores foram encontrados por Cãnon-Franco et. al. (2004) em Rondônia com 76,4%, Freire et. al. (1992) em Londrina com 75,9% e Garcia et. al. (1999) no Paraná com 84,1%.

Na literatura mundial, também podemos observar uma variação considerável nos resultados obtidos em diferentes estudos sobre a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em cães, com uma variação de 8,0 a 85,0% (TENTER et al., 2002).

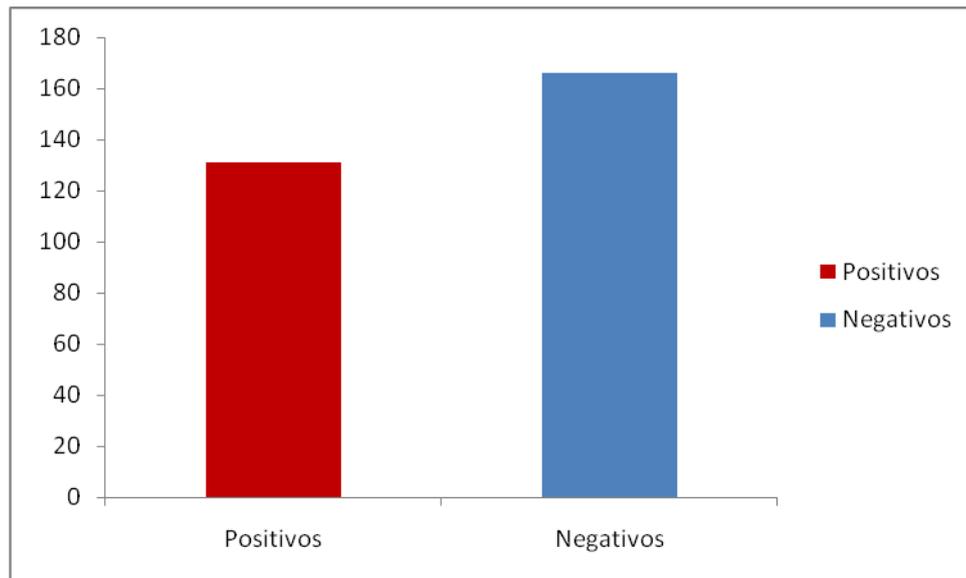


Figura 5. Resultados de prevalência observados em cães na cidade de Volta Redonda sororreagentes a *Toxoplasma gondii*

4.2 Fatores de risco associados á infecção por *Toxoplasma gondii* em cães

Com base nas informações obtidas nos questionários, pode-se verificar que há diferenças significativas ($p < 0,05$) na associação entre a sorologia para *T. gondii* e algumas variáveis estudadas.

4.2.1 Sexo

Foi observada diferença significativa entre o sexo dos animais testados e a presença de anticorpos para *T. gondii* ($p = 0,03$) (Tabela 1). Apesar da maioria da literatura não obter resultados similares, como podemos observar através dos resultados obtidos por Cabral et al. (1998), Barbosa et al. (2003), Canon-Franco et al. (2004), Azevedo et al. (2005), Bresciani et al. (2007), Jittapalpong et al. (2007), Romanelli et al. (2007), Tsai et al. (2008), Moura et al. (2009) e Carlos et al. (2010), onde os mesmos reforçam a hipótese de que não exista uma maior ou menor predisposição de machos ou fêmeas de adquirir toxoplasmose, alguns estudos onde existe essa diferença significativa, como o resultado obtido, os machos são mais acometidos, como observado por Brito et al. (2002). Contudo, acredita-se que outras variáveis de confundimento estejam envolvidas, tais como hábitos alimentares e de domicílio, uma

vez que cães machos possuem um comportamento mais errante, o que pode torná-los mais susceptíveis à infecção por *T. gondii*. Essa característica mais errante no macho é facilmente explicada pelo fato dos proprietários terem mais zelo com fêmeas, principalmente em períodos de cio, para evitar gestações indesejadas, enquanto que nos machos essa preocupação não existe.

Tabela1. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e o sexo dos animais.

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Machos	Positiva:	78(26) ^c	0,0367	1,251	1,040 - 2,607
	Negativa:	68(23)			
Fêmeas	Positiva:	62 (21)			
	Negativa:	89 (30)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em percentagem

4.2.2 Dieta

Não foram encontradas diferenças significativas entre os cães que se alimentavam exclusivamente de ração e os animais que eram alimentados com restos de alimentos voltados para o consumo humano (Tabela 2). Esse resultado corrobora com o descrito por Brito et. al (2002), Canon-Franco et al. (2004) e Bresciani et al. (2007), e discorda com os resultados observados por Moura et al. (2009).

A ingestão de comida caseira poderia configurar um fator de risco para infecção de cães, uma vez que os mesmos poderiam se contaminar por duas rotas principais de infecção, sendo elas a ingestão de oocistos na superfície destes alimentos e a ingestão de cistos teciduais. Contudo o hábito de fritar e cozinhar os alimentos, mesmo os destinados à alimentação de animais caberia como uma explicação para que tal via não fosse considerada de relevância na infecção canina por *T. gondii*, uma vez que oocistos

e cistos deste parasito não são muito resistentes ao cozimento e até mesmo ao congelamento em freezer comum de residências.

Tabela 2. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e a alimentação utilizada.

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Ração	Positiva:	85(29) ^c	0,3791	0,7844	0,4798 – 1,282
	Negativa:	118(40)			
Outras fontes	Positiva:	45 (15)			
	Negativa:	49 (16)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em percentagem

4.2.3 Ingestão de carne crua

Não foram observadas diferenças significativas entre os resultados de cães que ingeriam carne crua e os que não ingeriam (Tabela 3), com valor de $p=0,24$. Esses resultados foram similares aos obtidos por Pinto (2005), que também não observou diferenças significativas entre os animais que ingeriam carne ou vegetais crus e os que não ingeriam.

Apesar da ingestão de carne crua ser comprovadamente um fator de risco para infecção por *T. gondii* (LORD et al., 1975; MASUR et al., 1978; TENTER et al., 2000), alguns fatores podem ter contribuído para o resultado obtido. Primeiramente o baixo número de animais que, segundo os proprietários, ingerem carne crua, pois a cultura de alimentar animais com carne possui mais um caráter rural, e o ambiente estudado era estritamente urbano. Outro fator que pode explicar tal resultado é o fato de que o tipo de carne mais comumente oferecido aos cães ser bovina e sendo tal espécie considerada

pela resistência a *T. gondii*, podendo eliminar o parasito de seus tecidos e tornar-se sorologicamente negativos (OLIVEIRA, 1997), apesar de sua comprovada capacidade de transmitir *T. gondii* para seres humanos e outros animais carnívoros.

Tabela 3. Associação entre os cães reagentes *T. gondii* no ELISA e o hábito de ingerir carne crua

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Ingere carne crua	Positiva:	8 (3) ^c	0,24	0,716	1,040 to 2,607
	Negativa:	14 (5)			
Não ingere	Positiva:	122 (41)			
	Negativa:	153 (51)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em porcentagem

4.2.4. Contato com gatos

A variável contato com gatos foi a que apresentou maior significância em relação à infecção por *Toxoplasma gondii*, com resultado significativo (Tabela 4), ainda em função dos resultados obtidos, pode-se concluir que cães que residiam em locais com a presença de gatos tinham três vezes mais chances de adquirir infecção por *T. gondii* do que animais que não possuíam gatos na sua residência resultado este semelhante ao observado por Moura et al. (2009) e Azevedo et al. (2005) onde cães que habitavam na mesma residência dos gatos tinham chance maiores de serem sororreagentes. A presença de gatos é diretamente associada à presença do parasito, por ser esta o responsável pela eliminação dos oocistos no ambiente, uma importante forma de transmissão da toxoplasmose. Frente aos resultados obtidos, pode-se considerar que a forma predominante de infecção de cães na região provavelmente é através exatamente da ingestão de oocistos, especialmente quando observa-se os resultados em relação à

ingestão de alimentos destinados ao consumo humano e a ingestão de carne crua por parte dos cães analisados.

Apesar da variável contato com gatos ser evidentemente um suposto fator de risco em relação à toxoplasmose, muitos autores não encontraram uma relação significativa entre animais soro reagentes e a presença de gatos, como Pinto (2005), Bresciani et al. (2007) e Carlos et al. (2010).

Tabela 4. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e a presença de gatos nas residências.

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Sim	Positiva:	47(16) ^c	0,0001	3,071	1,771 – 5,326
	Negativa:	26(09)			
Não	Positiva:	83 (28)			
	Negativa:	141(47)			
Total	297(100)				

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em porcentagem

4.2.5 Acesso à rua

Quanto ao acesso à rua dos animais testados, não houve diferença significativa entre os resultados obtidos (Tabela 5). Este resultado é similar ao encontrado por Azevedo et. al. (2005) que também não observou associação entre a prevalência de anticorpos e o acesso à rua. O resultado foi considerado surpreendente, uma vez que se espera que animais com livre acesso a outros ambientes tenham maior chance de se contaminar, além de possuírem hábitos mais promíscuos em relação à alimentação e até mesmo contato com outros animais. Contudo, como o inquérito foi realizado com o auxílio da equipe de zoonoses do município, é plausível que alguns proprietários tenham ocultado o fato do animal ter acesso à rua, em virtude da ampla divulgação de

campanhas de posse responsável desenvolvidas pela Prefeitura, o que no entendimento dos mesmos poderia causar certo constrangimento ao afirmarem que deixam seus animais soltos em vias públicas.

Entretanto, outros autores obtiveram resultados ainda mais surpreendentes, como Brito et. al. (2002) que encontraram uma prevalência significativamente maior em cães que não tinham acesso à rua.

Tabela 5. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e o acesso a rua

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Acesso a rua	Positiva:	32 (11) ^c	0,427	1,05	0,4752 – 2,041
	Negativa:	26 (9)			
Sem acesso a rua	Positiva:	104 (35)			
	Negativa:	135 (45)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em percentagem

4.2.6 Raça

Quanto à raça, não se observou diferença significativa quanto à infecção por *T. gondii* (Tabela 6) na análise bivariada, obtendo valor de $p=0,08$. Contudo, para surpresa, a frequência em cães com raça definida foi maior que a frequência em cães SRD, com valores de 50,96 e 39,89%, respectivamente. A maioria da literatura descreve frequências mais elevadas em animais sem raça definida, porém sem significância estatística como os resultados observados por Brito et. al. (2002), Pinto (2005), Bresciani et al. (2007) e Romanelli et al. (2007), enquanto que Cabral et al. (1998), Moura et al. (2009) e Carlos et al. (2010) encontraram uma frequência elevada

em cães sem raça definida, porém com diferença significativa quando comparados aos cães com raça definida.

Espera-se uma maior frequência de infecção em cães sem raça definida pelo fato de que, na maioria das vezes, esses animais serem oriundos de proprietários que possuem menor zelo ao animal que animais de raça definida, tendo com isso, esses animais maior acesso aos fatores de risco à infecção, tais como acesso a diferentes ambiente e menor cuidado médico veterinário. Contudo tais explicações, apesar de plausíveis e prováveis, ainda não foram cientificamente comprovadas.

Quanto ao presente estudo, o fato de que a região em si é característica de uma cultura de valorização do animal sem raça definida, oriundo de feiras de adoção, em detrimento da cultura de venda de animais de raça, pode ter contribuído para que a variável raça não fosse significativa na infecção por *T. gondii*, uma vez que a explicação anterior quanto aos cuidados do proprietário dos animais sem raça definida não é uma característica real da região.

Além disso, é sabido que animais de raça, principalmente em função dos sucessivos cruzamentos entre irmãos, o que gera uma maior seleção de genes recessivos nos mesmos, são mais sensíveis às determinadas infecções, o que poderia explicar também o resultado observado.

Tabela 6. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e sua relação com as raças

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
SRD	Positiva:	77(26) ^c	0,0858	0,6387	0,3950 – 1,033
	Negativa:	116(39)			
Raça definida	Positiva:	53 (18)			
	Negativa:	51(17)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em percentagem

4.2.7. Faixa Etária

Para análise da relação entre infecção por *T. gondii* e a idade dos animais testados, os mesmos foram separados em grupos de acordo com a faixa etária. Contudo, não foram observadas diferenças significativas entre as diferentes faixas etárias os cães analisados (Tabela 7), com valor de $p=0,13$. Esses resultados estão de acordo com os descritos por Riemann et al. (1978), Brescian et al. (2007) e Moura et al. (2009), que também não identificaram diferenças significativas entre a infecção por *T. gondii* e a idade dos animais.

Contudo, a idade dos animais tem sido incriminada como fator de risco para infecção por *T. gondii*. Ishizuka et al. (1974) observaram maior proporção de resultados positivos em cães com dois ou mais anos de idade. Como cães até seis anos tiveram maior frequência de positividade, os autores concluíram que estes se infectam logo no início da vida, atingindo a titulação máxima aos dois anos, quando então a prevalência declina a partir do sétimo ano de vida. Jackson et al. (1989), Cabral et al. (1998), Barbosa et al. (2003), Canon-Franco et al (2004), Azevedo et al. (2005) e Romanelli et al. (2007) também descrevem diferenças significativas entre a idade dos cães estudados e a infecção por *T. gondii*.

É possível que não exista uma predisposição de idade para se adquirir a toxoplasmose, e que seja qual for a idade, somente esta variável não configura como um fator de risco sem a associação de outros fatores. Devem-se considerar ao analisar a idade como variável de risco os fatores de confundimento ou pensar em outras variáveis influenciando, como acesso a rua e alimentação, que podem variar de acordo com a idade dos animais.

Tabela 7. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e a faixa etária dos mesmos

Variáveis	Animais		Valor de <i>p</i>	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Até 11 meses	Positiva:	10 (3) ^c	0,13	-	0,8764 – 2,870
	Negativa:	16 (6)			
1 a 7 anos	Positiva:	84 (28)			
	Negativa:	121 (41)			
Acima de 7 anos	Positiva:	36 (12)			
	Negativa:	30 (10)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em percentagem

4.2.8 Localização do Bairro de Residência

Os bairros estudados foram agrupados em dois grupos, de acordo com as características locais, sendo o primeiro grupo composto pelas localidades da margem direita do Rio Paraíba do Sul, enquanto que o segundo grupo agrupou os bairros da margem esquerda do Rio. Ao analisarmos os dois grupos, não se obteve uma diferença significativa quando comparados em relação à positividade de infecção para *T. gondii* com $p=0,1$ (Tabela 8).

Apesar do número absoluto de animais reagentes que residiam nas localidades da margem direita do Rio Paraíba do Sul, o número de animais reagentes proporcionalmente ao número de amostras coletadas das localidades das margens direita e esquerda do Rio, foi muito similar. Isto pode ser explicado pela semelhança entre as localidades trabalhadas, que são locais mais próximos dos centros mais urbanos e comerciais do município de Volta Redonda, e por isso com maiores aglomerações de casas e pessoas, facilitando o trânsito de animais, em especial os gatos, que não se

restringem exclusivamente aos seus domicílios, aumentando a promiscuidade entre esses animais e a possibilidade de infecção.

Tabela 8. Associação entre os cães reagentes a *T. gondii* no ELISA e a localização do bairro de residência do animal

Variáveis	Animais		Valor de p	OR	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Margem direita do Rio	Positiva:	98 (33) ^c	0,1	1,18	0,9006 – 2,248
	Negativa:	113 (38)			
Margem esquerda do Rio	Positiva:	32 (11)			
	Negativa:	54 (18)			
Total		297(100)			

^a Usando aproximação de Woolf; ^b ELISA; ^c Valores relativos em percentagem

4.2.9. Outras variáveis

Outras informações importantes obtidas no questionário também foram analisadas, tais como o tipo de material utilizado na limpeza do ambiente em que o animal vivia, o contato com outros animais como pássaros e roedores, se os animais eram vacinados e/ou vermifugados e ainda se possuíam assistência médica veterinária permanente. Entretanto nenhuma destas variáveis apresentou diferenças significativas entre os resultados obtidos, apesar de se esperar que algumas talvez pudessem ter relação com os resultados, como a presença de assistência médica veterinária permanente, que poderia ser considerado um fator de proteção, como o observado por Carlos et al. (2010), pois a orientação sobre hábitos de higiene e alimentares e posse responsável fornecida aos donos dos animais pelos médicos veterinários, tornam esses animais menos expostos á possíveis fatores de risco, diminuindo dessa forma a chance de infecção.

Outra variável que poderia ser considerada fator de proteção seria a utilização de alvejante na limpeza do ambiente onde o animal vive o que facilitaria a eliminação de possíveis oocistos presente no ambiente.

A variável destino final das fezes não foi analisada, pois 100% dos proprietários entrevistados afirmaram eliminar as fezes dos animais e lixo comum doméstico.

4.3 Análise Multivariada

O modelo múltiplo de regressão logística mostrou que a raça e a presença de gatos na residência foram variáveis importantes para a infecção de cães na região estudada, com $p=0,0334$ e $p=0,0000$ respectivamente (Tabela 9 e 10).

Tabela 9. Modelo inicial da Análise Multivariada na avaliação da presença de cães sororreagentes a *Toxoplasma gondii* em Volta Redonda, RJ

Variável	OR	IC 95%	Valor de P
Acesso à rua	0,9850	0,4752 – 2,0419	0,9677
Sexo	1,2861	0,7928 – 2,0863	0,3080
Presença de gato	<u>3,2440</u>	<u>1,7946 – 5,8640</u>	<u>0,0001</u>
Localização do Bairro de Residência	1,5861	0,8764 – 2,8706	0,1275
Dieta	1,2182	0,9147 – 1,6224	0,1769
Raça	<u>1,7473</u>	<u>1,0038 – 3,0417</u>	<u>0,0485</u>
Faixa Etária	1,4230	0,9006 – 2,2486	0,1307

Tabela 10. Modelo final da Análise Multivariada na avaliação da presença de cães sororreagentes a *Toxoplasma gondii* em Volta Redonda, RJ

Variável	OR	95% - CI	P- value
Presença de gatos	3,2372	1,8527 – 5,6565	0,0000
Raça	1,7169	1,0435 – 2,8246	0,0334

Baseado nessas informações pode-se sugerir que na região estudada o fato do animal possuir contato com gatos em sua residência configurou um fator de risco importante, tendo esses, 3 vezes mais chances de ter toxoplasmose que cães que não possuíam contato com gatos. Como já discutido anteriormente, esta variável é importante, pois indica que a fonte de infecção mais provável na região seja através da ingestão de oocistos eliminados nas fezes de gatos contaminados. Quanto à outra variável de valor significativo, o resultado apesar de surpreendente, uma vez que demonstrou que animais com raça definida tinham 1,7 mais chances de adquirir infecção por *T. gondii* do que cães sem raça definida, pode ser explicada pelas características regionais e também pela teórica maior susceptibilidade de cães de raça à infecções, como já discutido anteriormente.

5. CONCLUSÕES

Frente aos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que:

- O ELISA indireto na rotina de identificação de enfermidades é uma boa opção para o CCZ, tendo em vista sua boa sensibilidade e especificidade, além de um menor custo e podendo ser utilizada em um grande número de amostras em um menor tempo;
- *Toxoplasma gondii* está presente nas localidades estudadas no Município de Volta Redonda, Região do Médio Paraíba;
- Fatores de risco para toxoplasmose canina foram identificados entre os animais analisados, tais como a raça dos mesmos e a presença de gatos nas moradias;
- A ingestão de alimentos crus ou outros alimentos destinados ao consumo humano não mostraram ser significativos na infecção por *T. gondii*, enquanto que a presença de gatos mostrou-se um fator de risco importante, evidenciando assim, que a possível forma de infecção mais comum na região seja através da ingestão de oocistos esporulados;

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, B. A.; GAAFAR, S. M.; WEIRICH, W. E.; KANIT, C. L. Relationship of *Toxoplasma* infections to other diseases. *Veterinary Parasitology*, v. 12, n.2, p. 199-203, 1983.
- AL-QASSAB, S.; REICHEL, M.P.; SU, C.; JENKINS D.; HALL, C.; WINDSOR, P.A.; DUBEY, J.P.; ELLIS, J. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the brain of a dog in Australia and its biological and molecular characterization. *Veterinary Parasitology*, v. 164, n. 2-4, p. 335-339, 2009.
- AMATO NETO, V.; CAMPOS, R.; BARUZZI, R. G.; DUARTE, M. I. S. *Toxoplasmose*. São Paulo: Sarvier, 1982. 155p.
- ARANTES, T.P.; LOPES, W.D.; FERREIRA, R.M.; PIERONI, J.S.; PINTO, V.M.; SAKAMOTO, C.A.; COSTA, A.J. *Toxoplasma gondii*: Evidence for the transmission by semen in dogs. *Experimental Parasitology*, v. 123, n. 2, p. 190-194, 2009.
- AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.; RAGOZO, A.M.; RODRIGUES, A.A.; ALVES, C.J.; GENNARI, S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 79, N. 1, p. 51-56, 2005.
- BARBOSA, M.V.F.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P.; REGIS, G.B. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, N. 6, p. 457-465, 2003.
- BERNSTEEN, L.; GREGORY, C. R.; ARONSON, L. R.; LIRTZMAN, R. A.; BRUMMER, D. G. Acute toxoplasmosis following renal transplantation in three

cats and dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.215, n. 8, p.1123, 1999.

BERREBI, A.; KOBUCH, W. E.; SARRAMON, M. F.; FOURNIÉ, A.; BESSIERES, M. H.; ROQUES, C.; BLOOM, M.; ROLLAND, M. Termination of pregnancy for maternal toxoplasmosis. *Lancet*, v.344, n.8914, p.36-39, 1994.

BETTIOL, S. S.; OBENDORF, D. L.; NOWARKOWSKI, M.; MILSTEIN, T.; GOLDSMID, J. M. Earthworms as paratenic hosts of toxoplasmosis in eastern barred bandicoots in Tasmania. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 36, n.1, p. 145-148, 2000.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; HOGA DE SILVA, E. M.; MACEDO, Z. S. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast feeding. *Journal of Tropical Pediatrics*, v. 43, n. 2, p. 116, 1975.

BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; TONIOLLO, G.H.; SABATINI, G.A.; MORAES, F.R.; PAULILLO, A.C.; FERRAUDO, A.S. Experimental toxoplasmosis in pregnant bitches. *Veterinary Parasitology*, v. 86, n. 2, p. 143-145, 1999.

BRESCIANI, K.D.S.; TONIOLLO, G.H.; COSTA, A.J. D.; SABATINI, G.A.; MORAES, F.R. Clinical, parasitological and obstetric observations in pregnant bitches with experimental toxoplasmosis. *Ciência Rural*, v. 31, n.6, p. 1039-1043, 2001.

BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; NAVARRO, I.T.; TONIOLLO, G.H.; SAKAMOTO, C.A.M.; ARANTES, T.P.; GENNARI, S.M. Toxoplasmose canina: Aspectos clínicos e patológicos. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 29, n. 1, p. 189-202, 2008.

BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; NUNES, C.M.; SERRANO, C.M.; MOURA, A.B.; STOBBE, N.S.; PERRI, S.H.V.; DIAS, R.A.; GENNARI, S.M. Ocorrência

de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba – SP. *Ars Veterinária*, v. 23, n. 1, p. 40-46, 2007.

BRITO, A. F.; SOUZA, L. C.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Epidemiological and Serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n.1, p.31-35, 2002.

BUSSANICH, M.N.; ROOTMAN, J. Implicating toxoplasmosis as the cause of ocular lesions. *Veterinary Medicine*, v. 80, p. 43-46, 1985.

BUXTON, D. Ovine toxoplasmosis: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, v. 83, n. 8, p. 509-511, 1990.

CABRAL, D.D.; SILVA, D.A.O.; MINEO, J.R.; FERREIRA, F.A.; DURAN, F.P. Frequency of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Uberlândia-MG. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 7, n. 2, p. 87-90, 1998.

CAMARGO, M. E.; LESER, P. G.; GUARNIERI, D.; ROCCA, A. Padronização de testes sorológicos para toxoplasmose, problema urgente da patologia clínica. *Revista Brasileira de Patologia Clínica*, v. 13, n.1, p. 1-5, 1977.

CANON FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; RICHTZENHAIN, L.J.; NOGUEIRA, Y., CAMARGO, L.M.A.; SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M. Evaluation of the performance of the modified direct agglutination test (MAT) for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, p. 452-456, 2003.

CANON FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; SILVA, J.C.R.; PINTER, A.; GENNARI, S.M. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the urban area of Monte Negro, Rondonia, Brazil. *Veterinary Research Communications*, v. 28, p. 113-118, 2004.

- CAPEN, C. C.; COLE, C. R. Pulmonary lesions in dogs with experimental and naturally occurring toxoplasmosis. *Pathologia Veterinária Online*, v. 3, n.1, p. 40-63, 1966.
- CARINI, A. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique*, v.4, p.518-519, 1911.
- CARLOS, R.S.A.; ALBUQUERQUE, G.R.; BEZERRA, R.A.; SICUPIRA, P.M.L.; MUNHOZ, A.D.; LOPES, C.W.G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e principais fatores de risco associados à infecção canina na região de Ilhes-Itabuna, Estado da Bahia. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.32, n.2, p.115-121, 2010.
- CHANDRAWATHANI, P.; NURULAINI, R.; ZANIN, C.M.; PREMAALATHA, B.; ADNAN, M.; JAMNAH, O.; KHOR, S.H.; KHADIJAH, S.; LAI, S.Z.; SHAIK, M.A.B.; SEAH, T.C.; ZATIL, S.A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs, goats, cattle, dogs and cats in peninsular Malaysia. *Tropical Biomedicine*, v. 25, n. 3, p. 257-258, 2008.
- CHESSUM, B. S. Reactivation of *Toxoplasma* oocyst production in the cat by infection with *Isospora felis*. *British Veterinary Journal*, v.128, n.7, p. 33-36, 1972.
- CHINCHILLA, M.; GUERRERO, O.M.; CASTRO, A.; SABAH, J. Cockroaches as transport hosts of the protozoan *Toxoplasma gondii*. *Revista de Biologia Tropical*, v. 42, n. 1-2, p. 329-331, 1994.
- COBEA, Princípios éticos na experimentação animal, 2012. Disponível em: <www.cobea.org.br>. Acesso em: agosto de 2013.
- CORLISS, J.O. Na interim utilitarian (“user-friendly”) hierarchical classification and characterization of the protists. *Acta of Protozoology*, v. 33, n.1, p. 1-51, 1994.
- COUTINHO, S.G.; LOBO, R.; DUTRA, G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during na outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. *Journal of Parasitology*, v. 68, n. 5, p. 866-868, 1982.

- COX, F.E.G. A new classification of the parasitic protozoa. *Protozoological Abstract*, v. 5, p. 9-14, 1981.
- DA SILVA, A. V.; PEZERICO, S. B.; DE LIMA, V. Y.; D'ARC MORETTI, L.; PINHEIRO, J. P.; TANAKA, E. M.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. *Veterinary Parasitology*, v. 127, n. 1, p. 23-27, 2005.
- DAVIDSON, M.G. Toxoplasmosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. v. 30, n. 5, p. 1051-1052, 2000.
- DE ABREU, C. B.; NAVARRO, I. T.; BALARIN, M. R. S.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; MARANA, E. R. M.; TRAPP, S. M.; TSUTSUI, V.S. Aspectos clínicos, patológicos e sorológicos da toxoplasmose experimental em cães jovens. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 22, n. 2, p. 123- 130, 2001.
- DE MOURA, L.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G.; WADA, M. Y.; JONES, J. L.; GRACA, R. M. T.; DA SILVA, A. J.; MOURA, I; DUBEY, J. P.; GARRETT, D. O. Waterborne outbreak of toxoplasmosis, Brazil, from Field to gene. *Emerging Infectious Diseases*, v. 12, n.2, p.326-329, 2006.
- DIZA, E.; FRANTZIDOU, F.; SOULIOU, E.; ARVANITIDOU, M.; GIOULA, G.; ANTONIADIS, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in northern Greece during the last 20 years. *Clinical Microbiology and Infection*, v 11, n. 9, p. 719–723, 2005.
- DOMINGUES, L.M.; MACHADO, R.Z.; COSTA, M.T.; CARVALHO, C.S.; COSTA, A.J.; MALHEIROS, E.B. Canine toxoplasmosis: a comparative evaluation of the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies by the indirect immunoenzymatic assay (ELISA) and the indirect immunofluorescence reaction (IIF). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, v. 7, n, 2, p. 79-85, 1998.

- DUBEY, J. P. Feline toxoplasmosis and coccidiosis: a survey of domiciled and stray cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 162, n.10, p. 873-877, 1973.
- DUBEY, J. P. A review of Sarcocystis of domestic animals and other Coccidia of cats and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 169, n. 10, p. 1061-1078, 1976.
- DUBEY, J. P. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming coccidian of MAM and animals. J.P. Kreier (Ed.), *Parasitic Protozoa*, v. III. Academic Press, New York, 1977. p. 101-237.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in dogs. *Canine Practice*. v.. 28, p. 7-28, 1985.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 189, n. 2, p. 166-170, 1986.
- DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* cysts in placentas of experimentally infected sheep. *American Journal of Veterinary Research*, v. 48, n. 3, p. 352, 1987.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 205, n. 4, p. 1593-1598, 1994.
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *Journal of Parasitology*, v. 84, n. 4, p. 862–865, 1998.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. Review. *Veterinary Parasitology* v. 126, n. 1-2, p. 57-72, 2004.
- DUBEY, J.P. Comparative infectivity of oocyst and bradizoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. *Veterinary Parasitology*, v. 140, n. 1-2, p. 69-75, 2006.

- DUBEY, J. P. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2^a ed. Boca Raton: CRC Press., 2010. 313p.
- DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. Boca Raton: CRC Press, 1988, 75 p.
- DUBEY, J.P.; CORTES-VECINO, J.A.; VARGAS-DUARTE, J.J.; SUNDAR, N.; VELMUUGAN, G.V.; BANDINI, L.M.; POLO, L.J.; ZAMBRANO, L.; MORA, L.E.; KWOK, O.C.H.; SU, C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Veterinary Parasitology*, v. 145, n. 1-2, p. 45-50, 2007b.
- DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *Journal of Protozoology*, v.19, n.1, p. 155-177, 1972.
- DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. *Journal of Parasitology*, v. 59, n.3, p.505-512, 1973.
- DUBEY, J.P.; LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis and Neosporosis. IN: Infectious diseases of the dog and the cat. 3 ed. Saunders, p. 754-775, 2006, 1387p.
- 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 and Microbiology Review*, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.
- DUBEY, J. P.; MATTIX, M. E.; LIPSCOMB, T. P. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. *Veterinary Pathology Online*, v.33, n.3, p.290-295, 1996.
- DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Parasitology*, p. 447-456, 1970.

- DUBEY, J. P.; PIMENTA, A. L.; ABBOUD, L. C. S.; RAVASANI, R. R.; MENSE, M. Dermatitis in a dog associated with an unidentified *Toxoplasma gondii*-like parasite. *Veterinary Parasitology*, v. 116, n. 1, p. 51-59, 2003a.
- DUBEY, J. P.; ROSS, A.D.; FRITZ, D. Clinical *Toxoplasma gondii*, *Hammondia heydorni* and *Sarcocystis* spp. Infections in dogs. *Parasitologia*, v. 45, n. 3-4, p. 141-146, 2003b.
- DUBEY, J. P.; SCHLAFER, D. H.; URBAN, J. F.; LINDSAY, D. S. Lesions in fetal pigs with transplacentally-induced toxoplasmosis. *Veterinary Pathology Online*, v.27, n.6, p.411-418, 1990.
- DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; BLIXT, J. A. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Journal of Parasitology*, v.83, n.5, p.870-872, 1997.
- DUBEY, J.P.; STONE, D.; KWOK, C.H.; SHARMA, R.N. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in dogs from Grenada, West Indies. *The Journal of Parasitology*, v. 94, n. 3, p. 750-751, 2008b.
- DUBEY, J.P.; SU, C. Population biology of *Toxoplasma gondii*: what's out and where did they come from. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 2, p. 190-195, 2009.
- DUBEY, J.P.; THAYER, D.W. Killing of different strains of *Toxoplasma gondii* tissue cysts by irradiation under defined conditions. *The Journal of Parasitology*, v. 80, n. 5, p. 764- 767, 1994.
- DUBEY, J.P.; VELMURUGAN, G.V.; ALVARADO-ESQUIVEL, C.; ALVARADO-ESQUIVEL, D.; RODRIGUEZ-PENA, S.; MARTINEZ-GARCIA, S.; GONZALEZ-HERRERA, A.; FERREIRA, L.R.; KWOK, O.C.H.; SU, C. Isolation of *Toxoplasma gondii* from animals in Durango, Mexico. *The Journal of Parasitology*, v. 95, n. 2, p. 319-322, 2009.

- DUNN, D.; WALLON, M.; PEYRON, F.; PETERSEN, E.; PECKHAM, C.; GILBERT, R.; Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. *Lancet*, v. 353, n.9167, p.1829-1833, 1999.
- ETHEREDGE, G.D.; MICHAEL, G.; MUEHLENBEIN, M.P.; FRENKEL, J.K. The roles of cats and dogs in the transmission of *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in eastern Panama. *Panama American Journal of Public Health*, v. 16, n. 3, p. 176-186, 2004.
- FAN, C.K.; SU, K.E.; CHUNG, W.C.; TSAI, Y.J.; CHIOU, H.Y.; LIN, C.F.; SU, C.T.; TSAI, M.C.; CHAO, P.H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among Atayal aboriginal people and their hunting dogs in northeastern Taiwan. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*, v. 1, n. 1, p. 35-42, 1998.
- FELDMAN, H.A. Epidemiology of *Toxoplasma* infections. *Epidemiologic Reviews*, v.4, n. 2, p. 204-213, 1982.
- FIGUEIREDO, L.A.; TORRES, F.D.; FARIA, E.B.; GONDIM, L.F.P.; MATTOS, L.S.; BRANDÃO FILHO, S.P.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 157, n. 1-2, p. 9-13, 2008.
- FLAUSINO, W.; SOARES, C. O.; FREIRE, R. B.; LOPES, C. W. G. Variações intra-específicas de taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolados de uma infecção natural e comparados frente a cepa congênita. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 5, n.2, p. 63-67, 1998.
- FREIRE, R.L.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E.A.; VIANNA, C.C. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães atendidos no hospital veterinário da UEL-PR. *Sem. Ciên. Agr. Londrina*, v. 13, n. 1, p. 66-69, 1992.

- FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis. Mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. *Current Topics in Pathology*, v. 54, p. 28-75, 1972.
- FRENKEL, J.K. *Toxoplasma* in and around us. *Bioscience*, v. 23, n. 6, p. 343- 352, 1973.
- FRENKEL, J.K. La inmunidad en la toxoplasmosis. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, v. 100, n. 3, p. 283-299, 1986.
- FRENKEL, J.K.; HASSANEIN, K.M.; BROWN, E.; THULLIEZ, P.; QUINTERO-NUNEZ, R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of childrens, cats, rodents, birds and soil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 53, n.5, p. 458-468, 1995.
- FRENKEL J.K.; PARKER, B. B. An apparent role of dogs in the transmission of *Toxoplasma gondii*. The probable importance of xenosmophilia. *Annals New York Academy of Sciences*, v.791, p.402-407, 1996.
- FRESCHI, C. R.; HIGA, A. C.; TINUCCI, C. M.; PANCRACIO, H. P.; MACHADO, R. Z. Caracterização de antígenos de *Toxoplasma gondii* pela técnica de “Western Blotting”, em soros de cães com sinais clínicos suspeitos de toxoplasmoses. *Ars Veterinaria*, v. 21, n. 2, p. 265-271, 2005.
- FRIEDMANN, E.; SON, H. The human companion animal bond: How humans benefit. *The Veterinary Clinics of North America.Small Animal Practice*, v. 39, n. 2, p. 293-326, 2009.
- GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da Toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná-PR. *Ciência Rural*, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.
- GERMANO, P. M. L.; ERBOLATO, E. B.; ISHIZUKA, M. M. Estudo sorológico da toxoplasmose canina pela prova de imunofluorescência indireta na cidade de

Campinas, 1981. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v. 22, n. 1, p.53-58, 1985.

GIRALDI, J. H.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E. A.; NAVARRO, I. T.; BATISTA, T. N. Sorologia e histopatologia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães portadores de distúrbios neurológicos. *Senina: Ciências Agrárias*, v. 23, n.1, p. 9-14, 2002.

GIVENS, D. M.; MARLEY, M. S. D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*, v.70, n.3, p. 270-285, 2008.

GOLDSTEIN, E. J. C.; MONTOYA, J. G.; REMINGTON, J. S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Clinical Infectious Diseases*, v. 47, n. 4, p. 554-566, 2008.

GREENE, C. O. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*.4th ed. Elsevier Saunders, St. Louis. 2012. 1376p.

GRUNSPAN, E.D. *Isolamento de Toxoplasma gondii em praça pública da cidade de Santa Maria, RS, Brasil*. Dissertação Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva Universidade Federal de Santa Maria, 1996, 68p..

GUIMARÃES, A. M.; RIBEIRO, M. F. B.; LIMA, J. D.; CURY, M. C.; SPIEWAK, G. Frequencia de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em cães de Belo Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 44, n.1, p. 67-68, 1992.

GUIMARÃES, A. M.; ROCHA, C. M. B. M.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; ROSADO, I. R.; MORAIS, L. G.; SANTOS, R. R. D. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do município de Lavras, MG. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, supl. 1, p. 49-53, 2009.

- HEADLEY, S. A.; ALFIERI, A. A.; FRITZEN, J. T. T.; GARCIA, J. L.; WEISSENBOCK, H.; DA SILVA, A. P.; BODNAR, L.; OKANO, W.; ALFIERI, A. F. Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 25, n.1, p. 129-135, 2013.
- HIGA, A. C.; MACHADO, R. Z.; TINUCCI-COSTA, M.; DOMINGUES, L. M.; MALHEIROS, E. B. Evaluation of cross-reactivity of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antigens in dog sera. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 9, n. 2, p. 91-95, 2000.
- HOFF, R. L.; DUBEY, J. P.; BEHBEHANI, A. M.; FRENKEL, J. K. *Toxoplasma gondii* cysts in cell cultura: new biologic evidence. *Journal of Parasitology*, v. 63, n. 6, p. 1121-1124, 1977.
- HOFFMANN, A. R.; CADIEU, J.; KIUPEL, M.; LIM, A.; BOLIN, S. R.; MANSELL, J. Cutaneous toxoplasmosis in two dogs. *Journal os Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 24, n. 3, p. 636-640, 2012.
- HOSSEININEJAD, M.; AZIZI, H.R.; HOSSEINI, F.; SCHARES, G. Development of an indirect ELISA test using a purified tachyzoite surface antigen SAG1 for sero-diagnosis of canine *Toxoplasma gondii* infection. *Veterinary Parasitology*, v. 164, n. 2-4, p. 315-319, 2009.
- HO-YEN, D.O. Infection in the laboratory. In: HO-YEN, D.O.; JOSS, A.W.L. Human toxoplasmosis. Oxford: Oxford University Press, p. 257-260, 1992.
- HUGHES, H.P.A. Toxoplasmosis - a neglected disease. *Parasitology Today*, v. 1, n. 2, p. 41-44, 1985.
- ITO, S.; TSUNODA, K. TSUTSUMI, Y. MATSUI, T. NISHIKAWA, H. IIADA, T. SASAKI, Y. Detection and confirmation of *Toxoplasma gondii* in the soil. *Japanese Journal of Veterinary Science*, v. 37, n. 6, p. 549-554, 1975.

- ISHIZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D. F. Estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para avaliação de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em soro de cães. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v. 11, p. 127-132, 1974.
- ISHIZUKA, M.M., YASUDA, P.H. Incidência de infecção por *Toxoplasma gondii* em cães do município de São Paulo. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v.18, n. 2, p.161-165, 1981.
- JACKSON, M.H.; HUTCHISON, W.M. The prevalence and source of *Toxoplasma* infection in the environment. *Advances in Parasitology*, v. 28, p. 55-105, 1989.
- JACOBS, L.; MELTON, M.L. Toxoplasmosis in chickens. *Journal of Parasitology*, v. 52, v. 6, p. 1158-1162, 1966.
- JACOBS, L.; REMINGTON, J.S.; MELTON, M. L. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Parasitology*, v. 46, n.1, p. 11-21, 1960.
- JEWELL, M.L.; FRENKEL, J.K.; JOHSON, K.M.; REED, V.; RUIZ, A. Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical Felidae. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 21, n. 5, p. 512-517, 1972.
- JITTAPALAPONG, S.; NIMSUPAN, B.; PINYOPANUWAT, N.; CHIMNOI, W.; KABEYA, H.; MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. *Veterinary Parasitology*, v. 145, n. 1-2, p. 138-141, 2007.
- JONES, J. L.; LOPEZ, A.; WILSON, M. Congenital toxoplasmosis. *American Family Physician*, v. 67, n. 10, p. 2131-2146, 2003.
- JONES, J.L.; KRUSZON-MORAN, D.; SANDRES-LEWIS, K.; WILSON, M. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999–2004, decline from the

prior decade. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 77, n.3, p. 405–410, 2007.

JONES, J. L.; DUBEY, J. P. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Experimental Parasitology*, v.124, n.1, p.10-25, 2010.

KORTBEEK, L.M.; De MELKER, H.E.; VELDHUIJZEN, I.K.; CONYN-VAN SPAENDONCK, M.A.E. Population-based *Toxoplasma* seroprevalence study in the Netherlands. *Epidemiology and Infection*, v. 132, n. 5, p. 839–845, 2004.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v, 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.

LANGHAM, R. F.; SHOLL, L. B. Canine Toxoplasmosis. *American Journal of Pathology*, v.25, n.3, p.569, 1949.

LEE, J.I.; LEE, S.E.; LEE, E.G.; SONG, K.H.; Nested PCR-based detection of *Toxoplasma gondii* in German shepherd dogs and stray cats in South Korea. *Research in Veterinary Science*, v. 85, n. 1, p. 125-127, 2008.

LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B.M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFIELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Protozoology*, v. 27, n. 1, p. 37-58, 1980.

LEVINE, N.D. *Veterinary Protozoology*. Ames: Iowa State University Press. 1985. 414p.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 73, n. 1-2, p. 27-33, 1997.

- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Long-term survival of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts in seawater. *Journal of Parasitology*, v. 95, n.4, p.1019-1020, 2009.
- LORD, W. G.; BONI, F.; BODEK, A.; HILBERG, R. W.; ROSINI, R.; CLACK, F. Toxoplasmosis in Pennsylvania. *Morbidity and Mortality*, v. 24, p. 285-287, 1975.
- MACRI, G.; SALA, M. LINDER, A.M.; PETTIROSSI, N. SCARPULLA, M. Comparison of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G antibodies in dog and cat. *Parasitology Research*, v. 105, n. 1, p. 35-40, 2009.
- MANDELL, D.C.; HOLT, E. Ophthalmic emergencies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 35, n. 2, p. 455-480, 2005.
- MASUR, H.; JONES, T. C.; LEMPERT, J. A.; CHERUBINI, T. D. Outbreak of toxoplasmosis in a family and documentation of acquired retinochoroiditis. *American Journal of Medicine*, v. 64, n. 3, p. 396-402, 1978.
- MEIRELES, L.R.; GALISTEO JR, A.J.; POMPEO, E.; ANDRADE JR, H.F. *Toxoplasma gondii* spreading in na urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. *Tropical Medicine and International Health*, v. 9, n. 8, p. 876-881, 2004.
- MELLO, V. Un cas de toxoplasmose du chien observe à Turin. *Bulletin of the Pathology Exotic Society*, v.28, p. 359-363, 1910.
- MILLER, N.I.; FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *Journal of Parasitology*, v. 58, n. 5, p. 928-937, 1972.
- MINEO, T. W. P.; SILVA, D. A. O.; COSTA, G. H. N.; ANCKEN, A. C. B.; KASPER, L. H.; SOUZA, M. A.; CABRAL, D. D.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a Veterinay hospital from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 98, n.4, p. 239-245, 2001.

- MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; NÄSLUND, K.; BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A.; MINEO, J.R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, n. 3, p. 414-417, 2004.
- MORETTI, L. A.; UENO, T. E.; RIBEIRO, M. G.; AGUIAR, D. M.; PAES, A. C.; PEZERICO, S. B.; SILVA, A. V. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. *Semina: Londrina*, v. 23, n. 1, p. 85-91, 2002.
- MORETTI, L. D.; DA SILVA, A. V.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.; LANGONI, H. *Toxoplasma gondii* genotyping in a dog co-infected with distemper vírus and ehrlichiosis rickettsia. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 48, n.6, p. 359-363, 2006.
- MOURA, A.B.; SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E.B.; PISETTA, G.M.; HEUSSER JUNIOR, A. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* em cães, nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, n. 3, p. 52-56, 2009.
- NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; OGAWA, L.; KANO, F.S. Estudo comparativo entre soro e plasma na pesquisa de anticorpos *anti-toxoplasma gondii* pela técnica de imunofluorescência indireta em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina-PR, 1996. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 18, n. 1, p. 15-21, 1997.
- OLIVEIRA, B.C. Toxoplasmose: perfil sorológico durante a gravidez e repercussões neonatais em maternidade pública de referência na cidade de Belém do Pará, 2002, 90p. Dissertação de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo, 2002.
- OLIVEIRA, F. C. R. de. *Infecção experimental de Bos indicus, Bos taurus e Bubalus bubalis com oocistos de Toxoplasma gondii. Estudo comparativo.* 1997, 92p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, 1997.

- OTTEN, E.; WESTPHAL, A.; KAJAHN, E. Toxoplasmosis in dogs. *Monatshefte fur Praktische Tierheilkunde*, v.2, p. 305-308, 1950.
- PIMENTA, A. L.; PIZA, E. T.; CARDOSO JUNIOR, R. B.; DUBEY, J. P. Visceral toxoplasmosis in dogs from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 45, n.3-4, p. 323-326, 1993.
- PINKERTON, H; WEINMAN, D. *Toxoplasma* infection in mam. *Archives of Pathology*, v. 30, p. 374-392, 1940.
- PLUGGE, N. F.; FERREIRA, F. M.; RICHARTZ, R. R. T. B.; DE SIQUEIRA, A.; DITTRICH, R. L. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* and/or *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological signs. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20, n. 3, p. 202-206, 2011.
- ROBBINS, J. R.; ZELDOVICH, V. B.; POUKCHANSKY, A.; BOOTHROYD, J. C.; BAKARDJIEV, A. I. Tissue barriers of the human placenta to infection with *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity*, v.80, n.1, p.418-428, 2012.
- ROMANELLI, P.R.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E.R.; OGAWA, L.; DE PAULA, V.S.O.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 82, n. 2, p. 202-207, 2007.
- RUIZ, A.; FRENKEL, J.K. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 29, n. 6, p. 1161-1166, 1980.

- SABIN, A. B.; FELDMAN, H. A. Dyes as microchemical indicators of new phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science*, v. 108, p. 660-663, 1948.
- SAITOH, Y.; ITAGAKI, H. Dung beetles, *Onthophagus* spp., as potential transport hosts of feline coccidian. *Nihon juigaku zasshi. Japanese Journal of Veterinary Science*, v. 52, n. 2, p.293, 1990.
- SAKAMOTO, K. P.; DE MELO, G. D.; MACHADO, G. F. Tand B lymphocytes in the brains of dogs with concomitant seropositivity to three pathogenic protozoans: *Leishmania chagasi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. *BMC Research Notes*, v. 6, n. 1, p. 226, 2013.
- SANTOS, T.R.; COSTA, A.J.; TONIOLLO, G.H.; LUVIZOTTO, M.C.R.; BENETTI, A.H.; SANTOS, R.R.; MATTA, D.H.; LOPES, W.D.Z.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, G.P. Prevalence of anti-Toxoplasma gondii antibodies in dairy cattle, dogs, and humans from the Jauru micro-region, Mato Grosso state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 161, n. 3-4, p. 324-326, 2009.
- SEVÁ, A. P.; DA SILVA, R. C.; DA SILVA, A. V.; DE CASTRO, A. P. B.; MENOZZI, B. D.; LANGONI, H. Avaliação da virulência de cepas de *Toxoplasma gondii* em camundongos, isolados de cães com sinais neurológicos, em Botucatu, SP. *Veterinária e Zootecnia*, v. 13, n.1, p. 33-43, 2006.
- SHARMA, S. P.; DUBEY, J. P. Quantitative survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradizoites in pepsin and tripsine solutions. *American Journal of Veterinary Reserch*, v. 42, p. 128-130, 1981.
- SILVA, D. A. O.; CABRAL, D. D.; BERNARDINA, B. L. D.; SOUZA, M. A.; MINEO, J. R. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. A comparative study immunoenzymatic, immunoflorecent and haemagglutination titers. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 6, p. 785-789, 1997.

- SIQUEIRA, C. L. Manifestações bucais da toxoplasmose congênita: relato de caso. *International Journal of Science Dentistry*, v.2, n.34, p.25-28, 2013.
- SMITH, D. D. The Sarcocystidae: *Sarcocystis*, *Frenkelia*, *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Hammondia*, and *Cystoisospora*. *Journal of Protozoology*, v. 28, n.2, p. 262-266, 1981.
- SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'AURIA, S.R.N.; CARDOSO, S.M.S.; GUIMARÃES JUNIOR, J.S.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 1-3, 2003.
- SUTER, M. M.; HAUSER, B.; PALMER, D. G.; OETTLI, P. Polymyositis – polyradiculitis due to toxoplasmosis in the dog: serology and tissue biopsy as diagnostic AIDS. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, v. 31, n.10, p. 792-798, 1984.
- SWINGER, R.L., SCHIMIDT, K.A.; DUBIELZIG, R.R. Case Report: Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. *Veterinary Ophthalmology*, v. 12, n. 1, p. 56-60, 2009.
- TARLOW, J. M.; RUDLOFF, E.; LICHTENBERGER, M.; KIRBY, R. Emergency presentations of 4 dogs with suspected neurologic toxoplasmosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 15, n.2, p. 119-127, 2005.
- TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.
- TOWBIN, H.; STALHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 76, n. 9, p. 4350-4354, 1979.

- TOWNSEND, W.M. Canine and Feline Uveitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 38, n. 2, p. 323-346, 2008.
- TSAI, Y.J.; CHUNG, W.C.; FEI, A.C.Y.; HONG, C.L.; TSAI, Y.Y; PNG, S.; WY, Y.L.
Prevalence of *Toxoplasma gondi* antibodies in stray dogs in Taipei, Taiwan. *The Journal of Parasitology*, v. 94, n. 6, p. 1437, 2008.
- TURNER, G. V. S. Some aspects of the pathogenesis and comparative pathology of toxoplasmosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, v. 49, n. 1, p. 3-8, 1978.
- WALLACE, G. D. Experimental transmission of *Toxoplasma gondi* by cockroaches. *Journal of Infectious Diseases*, v.126, n.5, p.545-547, 1972.
- WALLACE, G. D. Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 22, n. 4, p. 456-464, 1973.
- WANHA, K. EDELHOFER, R.; GABLER-EDUARDO, C.; PROSL, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. *Veterinary Parasitology*, v. 128, n. 3-4, p. 189-193, 2005.
- WOLF, A.; COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an Encephalitozoon (encephalitozoic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. *Bulletin of the Neurology Institute of New York*, v. 6, p. 306-335, 1937.

7. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NA PESQUISA DA UFRRJ / COMEP

Protocolo Nº 270/2012

PARECER

O Projeto de Pesquisa intitulado “*As doenças em cães e sua relação com a presença de Toxoplasma gondii e/ou Neospora*” sob a responsabilidade do Prof. Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, processo 23083.006805/2012-31, atende aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e está de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal estando de acordo com a Resolução 714 de 20/06/2002 do CFMV.

UFRRJ, 28/01/2013.


Prof. Dra. Aurea Echevarria Neves Lima
Pró-reitora de Pesquisa e Pós-graduação

Anexo 2. Questionário

Animal: _____

Bairro: _____

Proprietário: _____

Idade: _____

Tempo que reside no local: _____

Sexo: () M () F

Vermifugado: Sim() Não ()

Vacinação: Raiva Sim() Não ()

Óctupla Sim() Não ()

Uso de produtos ectoparasiticidas: Sim() Não ()

Local de manutenção desses animais: ()Cimentado ()Terra () Ambos

Modo de limpeza do ambiente: ()água somente ()água e alvejante

Contato com gatos: Sim() Não ()

Contato com outros animais: Sim() Não ()

Apetite: Normal () Aumentado () Diminuído () Anorético ()

Não sabe informar ()

Dieta: () Ração () Comida caseira () Comida caseira + ração()

Ingere carne crua ou mal cozida: ()Sim ()Não

Possui Méd Vet permanente: Sim() Não ()

Acesso à Rua: Sim () Não ()

Destino final das fezes : () Esgoto ()Enterra () lixo () outros

Anexo 3. RODRIGUES, J. DA S.; MEIRELES G.S. DE; FLAUSINO W.; LOPES C.W.G. The japanense quail (*Coturnix japonica*): a new intermediated host for *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 34, n. 1, p. 14-18, 2012

THE JAPANENSE QUAIL (*Coturnix japonica*): A NEW INTERMEDIATED HOST FOR *Cystoisospora felis* (WENYON, 1923) FRENKEL, 1977 (APICOMPLEXA: CYSTOISOSPORINAE)*

Janaina da Soledad Rodrigues¹, Gisele Santos de Meireles¹,
Walter Flausino² and Carlos Wilson Gomes Lopes^{3*}

ABSTRACT. Rodrigues J. da S., Meireles G.S. de, Flausino W. & Lopes C.W.G. **The japanense quail (*Coturnix japonica*): a new intermediated host for *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae).** [A codorna japonesa (*Coturnix japonica*): um novo hospedeiro para *Cystoisospora felis* (Wenyon 1923) Frenkel 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae)]. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(1):14-18, 2012. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: lopescwg@ufrj.br

Cystoisospora felis is an obligatory intracellular parasite that infects several species of felines. Infection is transmitted by either ingesting sporulated oocysts directly, or consuming an intermediated host harboring monozyotic cysts. In this study, 10 Japanese quails (*Coturnix japonica*) were infected with a pure inoculum of *C. felis* (10⁶ sporulated oocysts/ml); after 60 days post infection, liver, spleen, and cloacal bursa were removed from each quail and were separately fed to 3 kittens. A forth kitten was infected with 10⁶ sporulated oocysts/ml orally. Fecal samples were collected from each kitten daily and evaluated for the presence of oocysts; the percent sporulation of resulting oocysts was calculated daily. In addition, 50 sporulated oocysts from each infected individual were measured in µm, and evaluated for length, width and shape index. Kitten fed on liver had an average oocyst length of 44.30 (39.53 – 48.84), width of 31.30 (27.44 – 36.05) and shape index of 1.40 (1.16 – 1.58); while the kitten fed on spleen had an average length of 46.30 (41.40– 50.71), width of 32.90 (29.30 – 37.20) and shape index of 1.40 (1.22 – 1.71). The kitten fed on cloacal bursa had an average length of 44.80 (40.00 – 49.31), width of 31.20 (27.91 – 36.5) and shape index of 1.40 (1.18 – 1.60); and the kitten infected with sporulated oocysts orally had an average length of 43.60 (40.30 – 47.58), width of 30.80 (26.66 – 34.22) and shape index of 1.40 (1.23 – 1.58). Furthermore the prepatent and patent periods were determined for *C. felis* in the quail that serves as an experimental model for working in experimental conditions.

KEY WORDS. *Cystoisospora felis*, Japanese quail, experimental infection.

RESUMO. *Cystoisospora felis* é um parasito intracelular obrigatório que acomete felídeos de diversas espécies, e podem se contaminar tanto pela ingestão de oocistos esporulados, quanto pela ingestão de tecidos de hospedeiros intermediários infectados previamente com oocistos esporulados. Neste es-

*Received on March 13, 2011.

Accepted for publication on June 30, 2011.

¹ Médica-veterinária, *M.CsVs*. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mails: jajasoledad@gmail.com e gisele.meireles@gmail.com – bolsistas CNPq e CAPES.

² Biólogo, *PhD*. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: flausino@ufrj.br - bolsista CNPq.

³ Médico-veterinário, *PhD, LD*. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. +Correspondence author: E-mail: lopescwg@ufrj.br – bolsista CNPq.

tudo, 10 codornas japonesas foram infectadas com um inóculo puro de oocistos de *C. felis*, na concentração de 10^6 e, após 60 dias, o baço, o fígado e a bursa cloacal dessas codornas infectadas foram oferecidos a três filhotes de gato livres de infecção. Um quarto gato ainda foi infectado com uma suspensão de 10^6 oocistos viáveis de *C. felis* por via oral. Após o início da eliminação, os oocistos foram colocados para esporular e, em seguida, 50 oocistos oriundos de cada infecção foram mensurados em μm , apresentado em média diâmetro maior (DM), diâmetro menor (dm) e índice morfométrico com os seguintes valores: 44,30 (39,53 – 48,84), 31,30 (27,44 – 36,05) e 1,40 (1,16 – 1,58) para os oriundos do animal infectado com fígado, 46,30 \pm 2,20, 32,90 \pm 1,90 e 1,40 \pm 0,1 para os oocistos do animal infectado com baço; 44,80 (40,00 – 49,31), 31,20 (27,91 – 36,5) e 1,40 (1,18 – 1,60), para os oocistos oriundos do animal infectado com bursa cloacal; 43,60 (40,30 – 47,58), 30,80 (26,66 – 34,22) e 1,40 para os oocistos do animal que recebeu oocistos direto por via oral. Com estes resultados foi possível concluir que não existem diferenças significativas na morfometria dos oocistos de *C. felis*. Além disso, os períodos, pré-patente e patente foram semelhantes quando gatos foram alimentados com vísceras de codornas infectadas previamente com oocistos esporulados de *C. felis* em comparação com o animal que recebeu 10^6 oocistos esporulados por via oral.

PALAVRAS-CHAVE. *Cystoisospora felis*, codorna japonesa, infecção experimental.

INTRODUCTION

Cystoisospora felis (Wenyon, 1923) Frenkel 1977, an obligatory-intracellular parasite of the Sarcocystidae family (Cystoisosporinae subfamily), is one of the coccidium more frequently found in the feces of domestic cats (Amaral et al. 1966). *C. felis* oocysts are easily distinguished from other feline-feces coccidia by their large size (Frenkel & Dubey 1972).

Dubey & Frenkel (1972) identified two possible forms of *Cystoisospora* transmission in felines: first, by directly ingesting sporulated oocysts; or second by consuming an intermediate host infected previously with sporulated oocysts. A wide range of animals have been described as intermediate hosts serving as vectors for *Cystoisospora* species: including, mice, rats, and dogs (Frenkel & Dubey 1972); birds (Lindsay & Blagburn 1994); bovines

(Fayer & Frenkel 1979); swine (Carvalho Filho et al. 2003); rabbits (Costa & Lopes 1998); Mongolian gerbils (Carvalho Filho et al. 2004); and chickens (Massad et al. 2003).

The systemic distribution of hipnozoites in the viscera of different intermediate hosts was indicated by an accentuate tropism for mesenteric lymph nodes, spleen, liver and Payers' patches in mammals (Frenkel & Dubey 1972, Brösigke et al. 1982, Freire & Lopes 1996, Costa & Lopes 1997).

The present study evaluates the levels of infection obtained when healthy kittens are exposed to different types Japanese quail viscera which have been infected with *C. felis* and compares it to healthy kittens directly exposed to *C. felis*.

MATERIAL AND METHODS

The current study was carried out at the Laboratório de Coccidios e Coccidioses (LCC) – Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ.

A healthy cat, in the final stage of gestation was brought to the LCC and it was lodged in individual bay with water and food *ad libitum*. An examination of the feces was performed to determine if the female cat was free from gastrointestinal-parasite infection. In addition, a preventive treatment for coccidia was adopted as suggested by Loss & Lopes (1997).

Kittens were separated from their mother 45 days after parturition; fecal examinations were than performed for 30 days to ensure that kittens were free from coccidia infection. Kittens were then placed separately in suspended cages, which were previously disinfected with sodium hypochlorite and flame torch to prevent possible contaminations.

To evaluate kitten infection via infected viscera, ten Japanese quails (*Corturnix japonica*) were inoculated, using an orogastric tube, with *C. felis* suspension of 10^6 sporulated oocysts/mL (Figure 1). Sixty days after inoculation the Japanese quails were euthanized (Cobea 2007) and their livers, spleens and cloacal bursa were separated. A pure suspension of *C. felis* sporulated oocysts (10^6 oocysts/mL) in Hank' solution (Andrade 2000) was also prepared to evaluate transmission direct infection. *C. felis* sporulated oocysts were obtained from the purification of fecal samples from naturally infected cats.

A total of 4 kittens were used in this study; each received orally a distinct source of infection: cat I –



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

ground spleen, cat II – ground liver, cat III – ground cloacal bursa, and cat IV - suspension of 10^6 sporulated oocysts/mL. Beginning the day after inoculation, fecal samples were examined daily for infection as described by Figueiredo et al. (1984). For Oocyst sporulation, fecal samples were collected and diluted separately, and stored in plastic vials containing potassium dichromate 2.5% in water solution in a proportion ratio of 1:9 (v/v), which was placed under forced aeration using a aquarium pump and at $\sim 22^\circ\text{C}$.

Oocysts were checked daily for sporulation and classified as either, sporulated or non-sporulated. Once 80% of a sample was determined to have sporulated a morphologic analysis and characterization of the oocysts was carried out; 50 sporulated oocysts from each source of infection were measured separately using a micrometric ocular (K-15X PZO) in a binocular microscope (Carl Zeiss). For each oocyst the length and width were determined, as well as the index shape. Pictures were taken using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®.

During the experimental infections, prepatent and patent periods were observed for determining if there were differences in the source of hipnozoites.

In addition, the means of sporulated oocysts from different sources of infection was statistically

compared according to Sampaio (2002).

RESULTS AND DISCUSSION

By comparing the measurements of the length, width and index shape of oocysts recovered from the various sources of infection (Table 1), significant differences between these values were not observed. These results differ from those observed by Medeiros et al. (2007); they found that oocysts of *C. felis* proceeding from mice viscera were larger than those transmitted naturally. Although, the length and width means observed from each source of infection in this study were similar to those observed by Medeiros et al. (2007). Conversely the measurements observed in the present study for oocysts transmitted via infected quail viscera were larger than those observed after transmission by Mongolian gerbil viscera (Carvalho Filho et al. 2004). However the index shape of the oocysts was similar in both studies.

Prepatent and patent periods were the same among kittens exposed to infected viscera and similar to those exposed directly to sporulated oocysts (Table 2). Analogous results were observed by Dubey & Streitl (1976) and Carvalho Filho et al. (2004). Lindsay & Blagburn (1994) described a patent period from day 10-11 for *C. felis*; for cats free of coccidia were infected by 10^4 sporulated oocysts orally. Kittens fed on liver or spleen shed more

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

Source of infection	Oocysts (μm) (n=50) *		Shape index
	Length	Width	
Liver	44.30 (39.53-48.84)	31.30 (27.44-36.05)	1.40 (1.16-1.58)
Spleen	46.30 (41.40-50.71)	32.90 (29.30-37.20)	1.40 (1.22-1.71)
Cloacal bursa	44.80 (40.00-49.31)	31.20 (27.91-36.5)	1.40 (1.18-1.60)
Sporulated oocysts	43.60 (40.30-47.58)	30.80 (26.66-34.22)	1.40 (1.23-1.58)

* No significant differences were observed.

Table 2. The shedding of *Cystoisospora felis* oocysts by cats infected from different sources.

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

^a Oocysts per gram of feces

^b Infected with 10^6 sporulated oocysts/mL previously.

^c Kittens infected with 10^6 sporulated oocysts/mL orally.

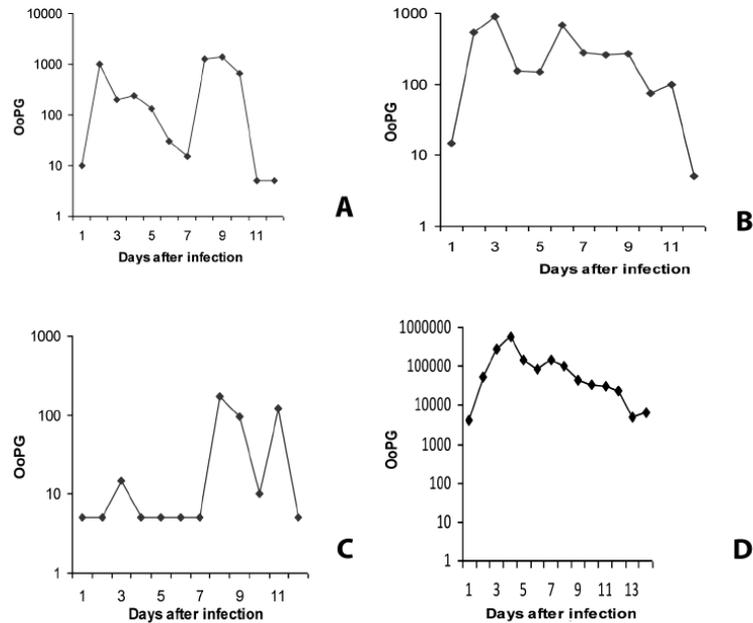


Figure 2. Shedding of *Cystoisospora felis* oocysts by cats fed on, (a) liver, (b) spleen, (c) cloacal bursa of the Japanese quail, and (d) infected with 10^6 sporulated oocysts orally

oocysts than that fed on cloacal bursa, but less than the kitten infected orally (Figure 2).

The data observed in this study was compatible to *Cystoisospora felis* infection, besides it the Japanese quail was considered as a new intermediated host; besides it Japanese quail should be considered as a good intermediated host for biological experimental infection.

REFERENCES

- Amaral V., Amaro R.G. & Birgel E.H. Ocorrência da *Isospora felis* Wenyon, 1923, em suçarana (*Puma concolor*). *Rev. Soc. Paul. Med. Vet.*, 4:25-28, 1966.
- Andrade C.M. *Meios e Soluções comumente empregados em Laboratórios*. 1ª ed. EDUR, Seropédica, 2000. 353p.
- Brösigke S., Heine J. & Boch J. Der nachweis extraintestinalen Entwicklungstadien (Dormozoitien) in experimentall mit *Cystoisospora rivolta* oozysten infierten Mause. *Klent. Praxis*, 27:25-34, 1982.
- Carvalho Filho P.R., de Massad F.V., Bezerra M.M., de Oliveira F.C.R. & Lopes C.W.G. *Cystoisospora felis* e *C. rivolta* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em vísceras de gerbis da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) e sua transmissão para gatos livres de coccídios. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:169-172, 2004.
- Carvalho Filho P.R. de, Melo P.S., Massad F.V. & Lopes C.W.G. Determinação da infecção de suínos por *Cystoisospora felis* (Wenyon 1923) Frenkel 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) através de prova biológica em felinos livres de coccídios. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 12:7-12, 2003.
- Cobea, Legislação & ética. Disponível at: <<http://www.cobea.org.br/ética.htm>>. Access on: Mar 14, 2007.
- Costa P.S. & Lopes C.W.G. Hipinozoítas de *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Rev. Bras. Ci. Vet.*, 1:35-36, 1997.
- Costa P.S. da & Lopes C.W.G. Avaliação do parasitismo de hipinozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em coelhos tipo carne. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 7:15-19, 1998.
- Dubey J.P. & Streitel R.H. *Isospora felis* and *I. rivolta* infections in cats induced by mouse tissue or oocysts. *British Vet. J.*, 132:649-651, 1976.
- Fayer R. & Frenkel J.K. Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidian: *Besnoitia*, *Hammondia*, *Cystoisospora*, *Sarcocystis* and *Toxoplasma*. *J. Parasitol.*, 65:756-762, 1979.
- Figueiredo P.C. de, Serra-Freire N.M. da & Grisi L. Eimerias de bovinos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro: técnicas de diagnóstico e espécies identificadas. *Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro*, 24:3-10, 1984.
- Freire R.B. & Lopes C.W.G. Distribuição de hipinozoítas de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel 1977 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em camundongos albinos experimentalmente infectados. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 5:23-28, 1996.
- Frenkel J.K. & Dubey J.P. Rodents as vectors for feline Coccidia, *Isospora felis* and *Isospora rivolta*. *J. Infect. Dis.*, 125:69-72, 1972.
- Lindsay D.S. & Blagburn B.L. Biology of mammalian *Isospora*. *Parasitol. Today*, 10:214-220, 1994.

- Loss Z.G. & Lopes C.W.G. Tratamento durante a gestação e no período pós-parto com sulfadiazina associada à pirimetropina de gatas portadoras de infecção natural por *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) e *C. rivolta* (Grassi 1879) (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 6:57-60, 1997.
- Massad F.V., de Oliveira F.C.R., Albuquerque G.R. & Lopes C.W.G. Hipinozoítas de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em frangos. *Rev. Bras. Ci. Vet.*, 10:57-58, 2002.
- Medeiros S.M. de, Loss Z.G., Flausino W. & Lopes C.W.G. Pleomorfismo de oocistos de *Cystoisospora felis* (Wenyon 1923) Frenkel 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) induzido por diferentes fontes de infecção. *Rev. Bras. Ci. Vet.*, 14:163-166, 2007.
- Sampaio I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª Ed. FEPMVZ, Belo Horizonte, 2002. 265p.

Anexo 4. JESUS, V.L.T.; PEREIRA, R.C.G.; MEIRELES, G.S. DE; RODRIGUES, J. DA S.; MEIRELES, G.S. DE; JORGE, J.L.P.; FLAUSINO, W. Brucelose suína no estado do Rio de Janeiro. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 32, n. 2, p. 101-104, 2010

BRUCELOSE SUÍNA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO*

SWINE BRUCELLOSIS IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO

Vera Lucia Teixeira de Jesus¹, Rita de Cássia Gomes Pereira², Gisele Santos de Meireles³, Janaína Soledad Rodrigues⁴, Jorge Luiz Baronto Pereira Jorge⁵ e Walter Flausino⁶

ABSTRACT. Jesus V.L.T de, Pereira R. de C.G., Flausino W., Meireles G.S. de, Rodrigues J. da S. & Jorge J.L.B.P. [Swine brucellosis in the State of Rio de Janeiro, Brazil]. Brucelose suína no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(2):101-104, 2010. Departamento de Avaliação e Reprodução Animal, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 7 da Br 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: jesus@ufrj.br

The objective of this serum-epidemiologic inquiry was to associate the occurrence of vaginal discharge, abortions, mummified phoetuses, repetitive breeding and abscesses in nuts covered by natural service with brucellosis infection. From July to December 2008, five blood samples were colleted and serum samples were submitted to serum agglutination test with buffer acidified antigen (AAT) for brucellosis. In the first trial, of the 10 matrices with reproductive disturbances, 3/10 (30.0%) were positives. In the second trial, matrices and reproducers had prevalence of 12.8% (5/34) females. In the third trial the prevalence of 8.9% for the flock, consisted of 282 swine, being 19/137 (12.2%) female and 6/120 (4.8%) male were reagents, with a difference for sex ($p=0.0349$) and not for age. Being thus, sanitary culling of the reacting animals was recommended. After the discard, two trials were done once more and no reacting animals were found. As the swine farms aim to the certification for sales of reproducers, a remain flock was discarded. A new breed was formed with rigid measured of sanitation for purchasing and selling animals, therefore, this work serves of alert, so that the brucellosis examination should be adopted as routine in swine farms in the State of Rio de Janeiro.

KEY WORDS: Abortion, infection, reproduction, brucellosis.

RESUMO. O objetivo deste inquérito soro-epidemiológico foi de associar a ocorrência de corrimentos vaginais, abortamentos, repetições deaios, fetos mumificados e abscessos em porcas cobertas por monta natural, com a infecção por *Brucella*. Durante os meses de julho a dezembro de 2008, foram feitas cinco coletas de sangue, os soros obtidos foram submetidos à prova de

Soroaglutinação Rápida com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) para a brucelose. Na primeira coleta, das 10 matrizes com distúrbios reprodutivos, 3/10 (30,0%) foram reagentes. Na segunda coleta, as matrizes e os reprodutores, tiveram uma prevalência de 12,8% (5/34) fêmeas reagentes. Na terceira coleta foi constatada a prevalência de 8,9% para o rebanho de 282 suínos,

* Recebido em 18 de agosto de 2009.

Aceito em 03 de março de 2010.

¹Médica-veterinária, *Dr.CsVs*. Departamento de Avaliação e Reprodução Animal, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: jesus@ufrj.br

²Médica-veterinária, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: regp@ufrj.br – bolsista REUNI

³Médica-veterinária, *M.CsVs*. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: gisele.meireles@gmail.com – bolsista CAPES

⁴Médica-veterinária, *M.CsVs*. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: jajasoledad@gmail.com – bolsista CNPq

⁵Médico-veterinário, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Rua José Breves, 550, Centro, Pinheiral, RJ 27197-000, Brasil.

⁶Biólogo, *PhD*. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: flausino@ufrj.br

sendo 19/137 (12,2%) fêmeas e 6/120 (4,8%) machos reagentes, com diferença para sexo ($P>0,05$) e não para a idade. Foi recomendado o abate sanitário dos animais reagentes. Após o descarte, foram feitas mais duas novas coletas, sem registro de animais reagentes. Como a granja visa à certificação para venda de reprodutores, o restante do rebanho foi descartado, e iniciado um novo plantel com rígidas medidas sanitárias para compra e venda de animais, portanto, este trabalho serve de alerta, para que o exame de brucelose seja adotado na rotina das granjas de suínos no Estado do Rio de Janeiro.

PALAVRAS CHAVE: Abortamento, abscesso, reprodução, brucelose.

INTRODUÇÃO

A suinocultura no Brasil vem apresentando nos últimos anos um grande avanço tecnológico; mesmo assim há registro de baixos índices de produtividade, devido a diversos fatores, tais como a utilização de práticas de manejo inadequada e deficiências de diagnóstico de enfermidades (Ribeiro 2005).

Diversos agentes infecciosos podem estar envolvidos em problemas reprodutivos de uma granja, os quais podem ocorrer de forma clínica, facilmente detectada, ou na forma sub-clínica, tornando difícil a sua identificação e controle. Dentro deste quadro clínico, enquadram-se a brucelose suína, que é uma zoonose, cujo agente etiológico é *Brucella suis*, subdividida em cinco sorotipos, sendo que o suíno é hospedeiro mais frequente para os sorotipos 1 e 3. *Brucella abortus* pode infectar os suínos, porém é menos patogênica (Silva Paulo et al. 2000, EFSA 2009).

Em vários continentes, há relato de casos esporádicos em porcos domésticos, devido a *B. suis*, mas em alguns países da América do Sul e Sudoeste da Ásia, há uma alta prevalência, com predomínio do sorotipo 1. No Brasil, é considerada como a segunda mais prevalente no quadro de infecção do gênero *Brucella* sp., segundo a OIE (2009).

Os suínos estão suscetíveis à brucelose a partir do quarto ao quinto mês de idade, transmitindo de suíno a outro, através da ingestão de alimentos ou água contaminados por descargas vulvares, ou pela ingestão de fetos abortados e membranas fetais. As porcas infectadas apresentam abortamento, em qualquer fase da gestação, sendo influenciada mais pelo tempo de exposição ao agente, do que o período de gestação. Também ocorrem outros distúrbios reprodutivos tais como: natimortos e descargas vulvares. Nos machos, predomina orquite, e pode afetar secundariamente outros órgãos genitais, e é comum o isolamento do sêmen, sem

qualquer sinal clínico do macho, portanto para a espécie é considerada a transmissão pela cópula. Em ambos os sexos, também afetam as articulações causando laminite e paralisia (FAO 2009).

Para o diagnóstico sorológico da brucelose suína, utiliza-se o mesmo antígeno padronizado e comercializado no Brasil para *B. abortus*, visto que *B. suis* também é uma cultura lisa e o teste de soroprecipitação consegue detectar a parte de lipossacarídeo destas duas espécies (Lord et al. 1997, Matos et al. 2004, PNSS 2008, EFSA 2009).

O objetivo deste inquérito soro-epidemiológico foi de verificar as associações dos distúrbios reprodutivos com a brucelose, e da mesma com diferentes categorias de animais, bem como demonstrando a importância do controle sanitário rigoroso na granja de suínos.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia baseou-se no inquérito soro-epidemiológico para a brucelose proposto pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), segundo o Programa Nacional de Sanidade de Suídeos (PNSS 2008), visando detectar o diagnóstico situacional da doença em uma granja comercial no município de Pinheiral, no Estado do Rio de Janeiro. Com este objetivo, inicialmente, foi feita uma coleta por matrizes com distúrbios reprodutivos, sendo confirmados animais reagentes; com isso, houve a necessidade de verificar a ocorrência da brucelose no rebanho como um todo.

A propriedade avaliada tratava-se de uma granja com sistema intensivo, com a finalidade de ensino e comercialização de matrizes e os seus derivados para o consumo humano. Composta por 282 suínos, as matrizes da raça Camborough 23, os reprodutores AG PIC 412 e os cruzamentos Ultra-Light. Estes animais são mantidos em maternidade, creche, recria, terminação e pocilgas das matrizes e dos reprodutores individualizados. A ração era fabricada na propriedade, e analisada sempre pelo técnico responsável em laboratório credenciado. A água era tratada com cloro e fornecida "ad libitum" aos animais; quanto à limpeza das instalações e o tratamento dos dejetos, eram realizados diariamente.

Para o diagnóstico da brucelose, as amostras de sangue foram coletadas nos meses de julho a dezembro de 2008, por punção auricular, com agulha descartável, uma para cada animal e transportadas para o laboratório de diagnóstico. Os soros sanguíneos obtidos foram estocados a -20°C e, depois, submetidos ao teste de diagnóstico de brucelose.

Como teste de triagem foi realizado o com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), cujos exames foram fei-

tos no Laboratório de Patologia da Reprodução (LPR), do Projeto Saúde Animal, Convênio Embrapa/UFRRJ. No teste AAT foi utilizado o antígeno com concentração de 8%, tamponado em pH ácido (3,65), padronizado a partir da cepa 119-3 de *Brucella abortus*, inativado pelo calor, antígeno produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), sendo o exame realizado segundo o protocolo preconizado pelo manual técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) (MAPA 2003).

Um banco de dados foi montado no programa EPI INFO (CDC 2008) no qual foram incluídos todos os registros dos distúrbios reprodutivos das matrizes, como abortamentos, abscessos, fetos mumificados, repetições de cio e corrimento vaginal, bem como os resultados dos testes sorológicos. O teste Qui-quadrado e Fisher exato, quando recomendado, foi utilizado para verificação de associações entre a variável explicada (prevalência de Brucelose) e as variáveis explicativas (sexo e idade) (Sampaio 2000).

RESULTADOS

No período de julho a dezembro de 2008, foram realizadas quatro coletas sorológicas, as quais estão discriminadas na Tabela 1, nas quais observamos uma prevalência de 30,0% na primeira coleta, o grupo das matrizes com distúrbios reprodutivos. Na segunda coleta das matrizes e reprodutores, uma prevalência de 12,8%, e na terceira coleta composta de todo o plantel de 8,86%.

Nas demais coletas (quinta e sexta) efetuadas após o abate sanitário dos animais reagentes, que ocorreu no mês de dezembro de 2008, sugerida pela equipe de coleta

Tabela 1. Diagnóstico da Brucelose para *Brucella abortus* em suínos.

Data da coleta	Teste AAT para Brucelose		
	Positivo	Negativo	Total (%)
1ª. (15/07/2008)	03	07	10 (30,00)
2ª. (31/07/2008)	05	34	39 (12,80)
3ª. (25/08/2008)	25	257	282 (8,86)
4ª. (06/11/2008)	00	183	183 (0,00)
5ª. (16/03/2009)	00	06	06 (0,00)
6ª. (25/06/2009)	00	07	07 (0,00)

e exame e realizada pelos técnicos responsáveis pelo rebanho, observa-se que em 2009, não houve ocorrência de nenhum animal reagente, visto que, adotaram como medida de controle e profilaxia, a quarentena dos animais comprados e comercializados na propriedade.

Agora uma análise detalhada sobre a terceira coleta, que foi decisiva para iniciar as medidas descritas anteriormente, observa-se que dos 282 animais, foi encontrada uma prevalência de 8,9%, ao qual discriminada por sexo, demonstra que 19/137 (12,2%) fêmeas e 06/

Tabela 2. Diagnóstico da Brucelose em suínos.

Sexo	Teste AAT para Brucelose ^a		
	Reagente	Não Reagente	Total
Macho	6 (2) ^b	120 (43)	126
Fêmea	19 (7)	137 (49)	156
Total	25 (9)	257 (91)	282

^a p= 0,0349; OR = 0,3605 (0,1394 < 95% < 0,9324).

^b Em percentagem.

120 (4,8%) machos reagentes ao teste de AAT, cujos resultados estão na Tabela 2.

Pelo Qui-quadrado demonstrou que houve diferença (p=0,0349) para sexo, que representa a forma de transmissão da brucelose, estavam restritas as fêmeas, devido aos distúrbios registrados, como abortamentos, fetos mumificados e repetição de cios, mas pode ser descartada a transmissão pela cópula, visto que os machos que reagiram ao teste de AAT eram lactentes, e não apresentavam o quadro de orquite e nem de infertilidade, e assim não eram os reprodutores da granja.

Quanto ao fator idade, os animais foram agrupados por categorias de produção, com intuito de verificar qual o grupo mais susceptível à infecção, assim discriminado: animais em lactação (≥38 dias); creche (39≥90 dias), recria (91≥141 dias), terminação (96≥141 dias), matrizes e reprodutores, os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado do diagnóstico para Brucelose em suínos.

Categoria de produção	Teste AAT para diagnóstico da Brucelose		
	Positivo	Negativo	Total
Lactação	04	49	53
Creche	15	117	132
Recria	00	47	47
Terminação	00	15	15
Matrizes	06	26	32
Reprodutores	00	03	03
Total	25	257	282

Os resultados não demonstraram diferença, mas houve uma concentração de reagentes à brucelose, na categoria creche, levantando a possibilidade da transmissão por resíduo de alimento, o que foi descartado pelos técnicos da granja. Quanto aos lactentes, correspondem aos filhotes das matrizes reagentes que pariram no período das coletas de sangue.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Após análise criteriosa da prevalência encontrada, a mesma não difere dos resultados do estado de Pernambuco, apresentou prevalência de 31,8% em granjas comerciais (Ribeiro, 2005), onde houve uma concentração de reagentes ao teste de Soroaglutinação Lenta, em propriedades com histórico de abortamentos, mas

difere do inquérito realizado no estado de Goiás, com índice de prevalência de 2,5%, de 4279 suínos examinados em granjas comerciais (Matos et al. 2004).

Visando a certificação da granja para venda de reprodutores, o restante do rebanho foi descartado, e iniciado um novo plantel com rígidas medidas sanitárias para compra e venda de matrizes, servindo de alerta o exame de brucelose na rotina das granjas de suínos no Estado do Rio de Janeiro.

Todos os animais de reposição para reprodução devem ser comprados de suinoculturas certificadas, oficialmente livre dessa doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CDC. Disponível em: <<http://www.cdc.gov>>. Acesso em: 12 mar. 2009.
- EFSA. Porcine brucellosis (*Brucella suis*). *EFSA J.*, 1144: 1-111, 2009.
- FAO. Infertility in cows. Disponível em: <<http://www.fao.org/wairdocs>>. Acesso em: 3 ago. 2009.
- Lord V., Cherwonogrodzky J.W., Marciano M.J & Melendez G. Serological and Bacteriological Study of Swine Brucellosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1:295-297, 1997.
- MAPA. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, Manual Técnico. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br> Acesso em: 2 ago. 2003.
- Matos M.P.C., Sobestiansky J., Porto R.N.G. & Meirinhos M.L.G. Ocorrência de anticorpos para *Brucella* sp. em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia, Estado de Goiás, Brasil. *Ci. An. Bras.*, 5:105-108, 2004.
- OIE. Swine Brucellosis. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00053.htm>. Acesso em: 01 ago. 2009.
- PNSS. Controle da Brucelose Suína. Disponível em: <<http://www.defesaagropecuaria.al.gov.br/programas/.../programa-nacional-de-sanidade-suidea-pnss>>. Acesso em: 1 ago. 2009.
- Ribeiro T.C.F.S. *Aspectos Produtivos da Suinocultura e Estudo Epidemiológico da Brucelose Suína na Região Metropolitana de Natal, RN*. Tese de Doutorado em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005. 64p.
- Sampaio I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, 2000. 221p.
- Silva P.P., Vigliocco A.M., Ramondino R.F., Marticorena D., Bissi E., Briones G., Gorchs C., Gall D. & Nielsen K. Evaluation of primary binding assays for presumptive serodiagnosis of swine brucellosis in Argentina. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 9:828-831, 2000.

Anexo 5. FLAUSINO, W.; JESUS, V.L.T.; BEZERRA, R.A.; ALBUQUERQUE, G.R.; JORGE, J.L.B.P.; RODRIGUES, J. da S.; MEIRELES, G. S. DE; PEREIRA, R.C.G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos de um sistema de criação comercial no estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 32, n. 4, p. 198-200, 2010.

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS DE UM SISTEMA DE CRIAÇÃO COMERCIAL NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO*

*OCURRENCE OF ANTIBODIES ANTI-*Toxoplasma gondii* IN PIGS IN A SYSTEM OF COMMERCIAL BREEDING IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO*

Walter Flausino¹, Vera Lúcia Teixeira de Jesus², Rodrigo Alves Bezerra³, George Rêgo Albuquerque⁴, Jorge Luiz Baronto Pereira Jorge⁵, Janaína da Soledad Rodrigues⁶, Gisele Santos de Meireles⁷ e Rita de Cássia Gomes Pereira⁸

ABSTRACT. Flausino W., De Jesus V.L.T., Bezerra R.A., Albuquerque G.R., Jorge J.L.B.P., Rodrigues J. da S., Meireles G.S. de & Pereira R. de C.G. [**Ocurrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos de um sistema de criação comercial no estado do Rio de Janeiro.** *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(4):198-200, 2010. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR- 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ, Brasil. E-mail: flausino@ufrj.br

In order to evaluate the occurrence of anti-*T. gondii* in pigs from Pinheiral municipality, state of Rio de Janeiro, were collected and examined blood samples from 282 animals from a commercial farm. The serum samples were tested at enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting antibodies to *Toxoplasma gondii* and considered as positive those with reaction at dilution $\geq 1:16$. Of the 282 swine serum samples, 35 (12.41%) were positive for anti-*T. gondii*. Significant differences were observed regarding age ($p = 0.0000004$). Thus, anti-*T. gondii* were found in the animals studied, and it may be a source of infection for the human population.

KEY WORDS. ELISA, pigs, zoonosis, *Toxoplasma gondii*, commercial breeding.

RESUMO. Com o objetivo de avaliar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos no município de Pinheiral, Estado do Rio de Janeiro, foram coletadas e examinadas amostras de sangue de 282 animais provenientes

de uma granja comercial. Os soros foram submetidos a técnica de Imunoabsorção enzimática (ELISA) para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e considerados positivos aqueles com reação na diluição $\geq 1:16$. Dos

*Recebido em 4 de abril de 2010

Aceito em 21 de setembro de 2010.

¹ Biólogo. *PhD*, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: flausino@ufrj.br – bolsista CNPq.

² Médica-veterinária, *Dr: CsVs*, Departamento de Avaliação e Reprodução Animal, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23.890-000. E-mail: jesus@ufrj.br

³ Médico-veterinário. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000, Brasil. – bolsista CAPES.

⁴ Médico-veterinário, *Dr: CsVs*, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000, Brasil. E-mail: gralbu@uesc.br

⁵ Médico-veterinário, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Pinheiral, RJ.

⁶ Médica-veterinária, *M. CsVs*. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: jajasoledad@gmail.com – bolsista CNPq.

⁷ Médica-veterinária, *M. CsVs*. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: gisele.meireles@gmail.com – bolsista CAPES.

⁸ Médica-veterinária, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: regp@ufrj.br – bolsista REUNI.

282 soros suínos, 35 (12,41%) foram positivos. Foram observadas diferenças significativas quanto a idade ($p=0,000004$). Desta forma, anticorpos anti-*T. gondii* foram encontrados nos animais estudados, podendo estes ser fonte de infecção para a população humana.

PALAVRAS-CHAVE. ELISA, suínos, zoonose, criação comercial, *Toxoplasma gondii*.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma enfermidade causada pelo coccídio *Toxoplasma gondii*, caracterizada como zoonose e tem os felídeos como hospedeiros definitivos e os animais homeotérmicos como hospedeiros intermediários (Dubey 2004). Os animais podem se infectar pela ingestão oral de oocistos presentes no ambiente, ou de cistos teciduais na carne de animais infectados (Kijlstra & Jongert 2008).

Em animais de produção, cistos teciduais de *T. gondii* são frequentemente observados em tecidos de suínos, ovinos e caprinos infectados (Tenter et al. 2000). A infecção pelo *T. gondii* em suínos normalmente é assintomática, porém pode provocar alterações reprodutivas, como aborto, natimortalidade e mumificação fetal em fêmeas que se infectam pela primeira vez durante a gestação (Vidotto et al. 1987; Kim et al. 2009). A maioria dos suínos adquire a infecção por *T. gondii* após o nascimento pela ingestão de oocistos no ambiente contaminado, poucos sendo infectados por transmissão transplacentária (Dubey 2009).

Os suínos são considerados a principal fonte de infecção para humanos (Velmurugan et al. 2009). A toxoplasmose humana é considerada a principal causa de infecção de retina no mundo (Holland 2003). Doença severa, desenvolve-se em pacientes com SIDA ou que recebem terapia imunossupressora. A infecção durante a gestação pode causar aborto ou resultar em sérias doenças fetais e malformações, com retardamento mental e perda de visão (Syrocot 2007, Wallon et al. 2004).

Vista sua importância para a saúde pública e os prejuízos causados para os animais de produção, o objetivo do presente trabalho foi determinar a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* em suínos, abatidos no município de Pinheiral, Estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados sangue de 282 suínos, em uma granja no município de Pinheiral, Estado do Rio de Janeiro, no período de julho a setembro de 2008.

O sangue foi coletado por punção da veia cava e transportado ao Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Parasitologia Animal, Projeto

Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, do Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde os soros foram separados, identificados, armazenados a -20°C e encaminhados para o Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) onde as análises sorológicas foram realizadas.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, foi utilizado o teste de Imunoabsorção enzimática (ELISA) conforme Suárez-Aranda et al. (2000) com algumas modificações. Utilizou-se a antígeno na diluição de 50 $\mu\text{g/ml}$, todas as lavagens foram feitas com PBS contendo 0,1% de Tween 20 (PBS-T), o bloqueio foi feito com PBS-T contendo 5% de leite desnatado e a reação foi interrompida com 50 μL /poço de H_2SO_4 2N. O antígeno solúvel foi obtido do exsudato peritoneal de camundongos infectados com a cepa RH de *T. gondii*, conforme Silva et al. (2005).

Para análise das variáveis sexo e idade dos animais, foi usado o teste Qui-quadrado (χ^2), com nível de significância de 5%, utilizando o programa EPI INFO versão 3.5.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, dos 282 soros testados, 12,41% (35/282) (IC 95% = 8,8 % – 16,8 %) foram positivos para anticorpos anti-*T. gondii*.

Valores de prevalência mais expressivos que estes, do presente trabalho, foram observados por Azevedo et al. (2010) na Paraíba (36,2%) e Cavalcante et al. (2006) na Amazônia (37,5%). Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Moura et al. (2007) no Paraná (8,5%) e Suárez-Aranda et al. (2000) em São Paulo (9,6%).

A baixa positividade obtida neste estudo pode ser explicada pela pouca idade dos animais avaliados, uma vez que um número maior de sororreagentes geralmente é verificado entre animais mais velhos, como também, em função da alta tecnificação da suinocultura (Vidotto et al. 1990). A criação de suínos confinados em granjas tecnificadas é responsável pela diminuição da soroprevalência nesses animais, diminuindo a chance de infecção humana por esta espécie animal (Kijlstra & Jongert 2008).

Quando se analisa a faixa etária (Figura 1) verifica-se que a soropositividade aumentou com a idade, ($p>0,000$) (Tabela 1) corroborando aos resultados de Tsutsui et al. (2003), no norte do Paraná e Garcia et al. (1999) no Paraná, evidenciando que animais mais velhos têm maior soropositividade, pois estão mais susceptíveis a entrar em contato com oocistos.

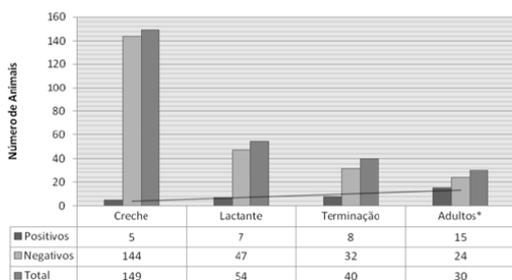


Figura 1. Positividade dos 282 amostras de soros de suínos analisados para a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suas faixas etárias, no município de Pinheiral, RJ, Brasil, 2009.

Tabela 1. Resultado do teste de Qui-quadrado em 282 amostras de soro de suínos avaliados quanto à presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e das variáveis sexo, idade e raça, município de Pinheiral, RJ, Brasil, 2009.

Variáveis	Animais		Valor de p
	Positivos	Negativos	
Sexo			
Macho	14	111	0,7123323
Fêmea	21	136	
Idade			
Jovens	20	233	0,0000004
Adultos	15	24	

*Sem raça definida

Com a análise da variável sexo frente à positividade do total de suínos não se nota diferença ($p=0,71$) (Tabela 1) mesmos resultados foram encontrados por Bezerra et al. (2009) na Bahia e Millar et al. (2008) no Paraná.

Anticorpos anti-*T. gondii* foram encontrados nos animais estudados, sugerindo que estes possam servir de infecção para indivíduos que têm o hábito de consumir carne suína crua ou mal cozida.

Agradecimentos. Aos Doutores Itamar Teodorico Navarro, da Universidade Estadual de Londrina e Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, da Universidade Estadual do Norte Fluminense, pelo fornecimento dos soros controles.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azevedo S.S., Pena H.F.J., Alves C.J., Guimaraes A.A.M., Oliveira R.M., Maksimov P., Schares G. & Gennari S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 19:80-84, 2010.
- Bezerra R.A., Paranhos E.B., Del'arco A.E. & Albuquerque G.R. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 18:78-80, 2009.
- 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. *J. Parasitol.*, 92:863-864, 2006.

- Dubey J.P. Toxoplasmosis in pigs-The last 20 years. *Vet. Parasitol.* 164:89-103, 2009.
- Dubey J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. *Vet. Parasitol.*, 126:57-72, 2004.
- Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L. & Oliveira R.C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos, e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. *Cienc. Rural*, 29:91-97, 1999.
- Holland G.N. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: Epidemiology and course of disease. *Am. J. Ophthalmol.* 136:973-988, 2003.
- Kijlstra A. & Jongert E. Toxoplasma-safe meat: close to reality? *Trends Parasitol.*, 25:18-22, 2008.
- Kim J.H., Kang K., Kang W.C., Sohn H.J., Jean Y.H., Park B.K., Kim Y. & Kim D.K. Porcine abortion outbreak associated with *Toxoplasma gondii* in Jeju Island, Korea. *J. Vet. Sci.*, 10:147-151, 2009.
- Millar P.R., Daguer H., Vicente R.T., Costa T., Sobreiro L.G. & Amendoeira M.R.R. *Toxoplasma gondii*: estudo soroprevalência de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.*, 28:15-18, 2008.
- Moura A.B., Osaki S.C., Zulpo D.L. & Marana E.R.M. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 16:54-56, 2007.
- Silva D.A.O., Vitaliano S.N., Mineo T.W.P., Ferreira R.A., Bevilacqua E. & Mineo J.R. Evaluation of homologous, heterologous, and affinity conjugates for the serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*). *J. Parasitol.*, 91:1212-1216, 2005.
- Suaréz-Aranda F., Galisteo J.R., Hiramoto R.M., Cardoso R.P.A., Meireles L.R., Miguel O. & Andrade J.R. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet. Parasitol.*, 91:23-32, 2000.
- SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) Study Group. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a metaanalysis of individual patients data. *Lancet*, 369:115-122, 2007.
- Tenter A.M., Heckeroth A.R. & Weiss L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.*, 30:1217-1258, 2000.
- Tsutsui V.S., Navarro I.T., Freire R.L., Freitas J.C., Prudencio L.B., Delbem A.C.B. & Marana E.R.M. Soroprevalência e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. *Arch. Vet. S.*, 8:27-34, 2003.
- Velmurugan G.V., Su C. & Dubey J.P. Isolate designation and characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from -pigs in the united states. *J. Parasitol.*, 95:95-99, 2009.
- Vidotto O., Navarro I.T., Giraldi N., Mitsuka R. & Freire R.L. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina, PR. *Semina: Ci. Agr.*, 11:53-59, 1990.
- Vidotto O., Reis A.C.F., Costa A.J., Vioti N.M. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. Alterações patológicas e isolamento. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 39:795-814, 1987.
- Wallon M., Kodjikian L., Binquet C., Garweg J., Fleury J., Quantin C. & Peyron F. Long term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*, 113:1567-1572, 2004.