

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

**MODELO HAMSTER (*Mesocricetus auratus* Waterhouse,
1839) PARA O ESTUDO DA TOXOPLASMOSE
CONGÊNITA**

Cristina Germani Fialho

Porto Alegre

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

**MODELO HAMSTER (*Mesocricetus auratus* Waterhouse,
1839) PARA O ESTUDO DA TOXOPLASMOSE
CONGÊNITA¹**

Cristina Germani Fialho

Tese apresentada como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências Veterinárias
na área de Parasitologia.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araujo

Orientador Colaborador: Prof. Agdo. Dr. Álvaro Freyre (Uruguai)

Porto Alegre

2009

¹ Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Veterinária da UFRGS

F438m Fialho, Cristina Germani

Modelo Hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1839) para o estudo da toxoplasmose congênita./ Cristina Germani Fialho. – Porto Alegre: UFRGS, 2009.

162 f.; il. – Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2009. Flávio Antônio Pacheco de Araújo, Orient.

1. Imunologia 2. *Toxoplasma gondii* 3. Hamster 4. Doenças parasitárias: prevenção e controle I. Araújo, Flávio Antônio Pacheco de, Orient.

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Doutores Participantes da Banca

Dr. André Silva Caríssimi

Dra. Maria Elisabeth Aires Berne

Dra. Neusa Saltiel Stobbe

O descanso restitui as forças.
Recomece. Anime-se.
Se preciso, faça tudo novamente.

Assim, é a VIDA!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus anjos da Guarda, que sempre me regem, me guardam, me governam, me iluminam, por todos os dias de minha vida (amém!).

Aos meus pais Sergio e Naura pela vida e amor incondicional! Por me ensinarem os caminhos certos, e a necessidade do estudo. Ao meu irmão Bruno e minha cunhada Gisele, pela alegria de ter uma sobrinha: minha amada Gabrielle.

Ao meu amor, Sandro, pela companhia, pelo incentivo, e pela paciência, devido aos grandes períodos de ausências causados pela distância entre Porto Alegre e nossa casa (primeiro em Carazinho-RS e por último, bem mais distante, em Cascavel-PR).

Aos meus tios, Volnei e Leda, e ao meu primo Daniel por me acolherem em sua casa em Canoas. E aos primos Rose, Osvino, Guilherme, Henrique, Fernanda e Tia Daicy que também me receberam inúmeras vezes para pousar e almoçar. Pelo mesmo motivo (pouso) agradeço aos meus amigos Cecília e Renato, Lara e minha afilhada Renata.

A amiga Nadia que me recebeu em sua casa em Montevideo, e que muitas vezes se prontificou a levar ou buscar algum material com meu co-orientador, naquela maravilhosa cidade.

As colegas e amigas Mayra, Ana Cláudia, Karla, Karen e Mariana pela adorável companhia no laboratório, nas aulas, estudos, congressos e almoços. E um agradecimento especial à Mariana, principalmente dos nossos amiguinhos Hamsters e camundongos (os quais ela ajudou a cuidar). Agradecimento esse que deve ser estendido aos bolsistas, Rafael e a Lenize.

Ao colega Flávio Roberto que esteve presente no início do projeto. E a colega Lorena que estava em parceria na realização dos dois primeiros experimentos.

Ao Sr. Álvaro Freyre, pela co-orientação e realização das aglutinações no na Faculdade de Veterinária no Uruguai.

Ao meu orientador Dr. Flávio A. P. de Araujo, pelas oportunidades, amizade, e pela orientação para a realização e conclusão do trabalho.

RESUMO

Atualmente não se dispõe de vacinas contra a toxoplasmose humana, mas têm-se desenvolvido modelos animais em ratas e camundongos para o ensaio imunológico contra a toxoplasmose. No entanto, estes modelos têm mostrado certas limitações. É aconselhável contar com ensaios efetuados em diversas espécies animais antes de comprometer-se com custosos ensaios finais de vacinação, já que as diversas espécies animais, respondem diferentemente frente aos mesmos imunógenos. O objetivo geral do presente trabalho foi então, indagar a aplicabilidade de um modelo hamster para o estudo da imunidade contra a toxoplasmose congênita. Os objetivos específicos foram: verificar a transmissão congênita de *Toxoplasma* durante o estágio crônico da infecção; verificar a transmissão congênita de *Toxoplasma* durante o estágio agudo da infecção; verificar a ocorrência da transmissão lactogênica no desenho experimental proposto, e questionar a proteção contra a toxoplasmose congênita, conferida pela imunidade estéril e mediante a premunicação. O cumprimento dos objetivos possibilitará o uso de imunizações (com *Toxoplasma gondii* viável) em futuros estudos, assim como conhecer a eficácia dos desafios efetuados em hamster, e também permitirá conhecer se o imunógeno mais simples disponível é suficiente para conferir proteção contra a toxoplasmose congênita. Quanto ao ensaio da imunidade na fase crônica da toxoplasmose foi possível comprovar nas condições deste experimento que ela não ocorre, pois as 10 fêmeas hamster inoculadas com 40 oocistos da cepa ME-49 antes de serem acasaladas, tiveram filhotes negativos para anticorpos anti-*T.gondii*. No modelo de infecção aguda, 100% das fêmeas inoculadas com 10^2 oocistos da cepa Prugniaud durante a gestação foram positivas, e houve 60% de transmissão transplacentária para seus filhotes e 40% de transmissão transmamária para filhotes adotados. Também, 100% das fêmeas inoculadas com 10^3 oocistos da mesma cepa durante a gestação foram positivas e nos seus filhotes ocorreram 100% de transmissão transplacentária, e em 40% dos filhotes adotados houve transmissão transmamária. Num terceiro experimento, em fêmeas inoculadas com a cepa RH e medicadas houve sobrevivência de 86,6% e a extinção da cepa RH em 46,15% dos cérebros. No modelo para testar a proteção com cepa RH contra oocistos de *T. gondii* de cepa heteróloga, não houve transmissão de toxoplasmose congênita em 100% das mães imunizadas com RH e desafiadas com Prugniaud e em 50% das mães imunizadas com RH e desafiadas com M3. O desafio heterólogo após imunização com a cepa RH, nesse experimento conferiu total proteção (100%) em hamsters duas vezes imunizadas com a cepa RH contra desafio com bradizoítos e oocistos com as cepas Prugniaud e M-7741, mas a proteção com oocistos de M3 foi parcial (67%). As conclusões foram o hamster é um modelo promissor para o estudo da toxoplasmose congênita, uma vez que a infecção crônica antes da prenhez, com oocistos da cepa ME49, protegeram as ninhadas e a infecção aguda durante a prenhez, com a cepa Prugniaud, resultou em transmissão transplacentária. Houve transmissão lactogênica mas não foi confirmada sua importância epidemiológica com a metodologia empregada. O hamster também se mostrou promissor para o estudo da proteção contra *T. gondii* tendo em vista que a infecção com cepa RH conferiu proteção total (contra Prugniaud e M7741) ou parcial (contra M3) das ninhadas contra cepas heterólogas.

ABSTRACT

Nowadays there are no vaccines against human toxoplasmosis, but it has been developed animal models in rats and mice for immunologic assay against toxoplasmosis. However, these models have showed certain limitations. It is advisable to count on assays done in several animal species before pledging with expensive final vaccination assays, since several animal species differently answered to the same immunogens. The general objective of this work was to investigate the applicability of a hamster model for the study of immunity against congenital toxoplasmosis. The specific objectives were: to verify the congenital transmission of *Toxoplasma* during the chronic phase of the infection; to verify the congenital transmission of *Toxoplasma* during the acute phase of infection; to verify the occurrence of lactogenic transmission in the experimental trial which was proposed, and to question the protection against congenital toxoplasmosis given by the sterile immunity and by the means of premonition. The fulfillment of the objectives will enable the use of immunizations (with viable *gondii* *Toxoplasma*) in future studies, as well as, the knowledge of the efficacy about the challenges done in hamsters. It will also allow us to know whether the simplest immunogen available is enough to give protection against congenital toxoplasmosis. Regarding the immunity assay in the chronic phase of toxoplasmosis we were able to prove that it does not occur because 10 female hamsters inoculated with oocysts of ME-49 strain before being coupled had negative offspring for anti-*T. gondii* antibodies. In the model of acute infection, 100% of females inoculated with 10^2 oocysts of Prugniaud strain during their gestation were positive and there were 60% of transplacental transmission for their offspring and 40% of transmammary transmission for foster offspring. Also, 100% of females inoculated with 10^3 oocysts of the same strain during the gestation time were positive and in their offspring there was 100% of transplacental transmission, and in 40% of their foster offspring there was transmammary transmission. In a third experiment, in females which were medicated and inoculated with RH strain there was a survival of 86.6% and the extinction of RH strain in 46.15% of the brains. In the model to test the protection with RH strain against oocysts of *Toxoplasma gondii* of heterologic strain, there was no transmission of congenital toxoplasmosis in 100% of mothers immunized with RH and challenged with Prugniaud and in 50% of mothers immunized with RH and challenged with M3. In this experiment, the heterologous challenge after the immunization with RH strain gave total protection (100%) in hamsters which were twice immunized with RH strain against challenge with bradyzoites and oocysts with Prugniaud and M-7741 strains, however, the protection with M3 oocysts was partial (67%). The conclusions were that the hamster is a promising model for the study of congenital toxoplasmosis, since chronic infection before pregnancy, with oocysts of ME49 strain protected their offspring and the acute infection during pregnancy, with Prugniaud strain, resulted in transplacental transmission. There was lactogenic transmission but it was not confirmed its epidemiologic importance with the methodology applied. Hamsters have also showed to be promising for the study of protection against *T. gondii* having in mind the infection with RH strain gave total protection (against Prugniaud and M7741) or partial (against M3) of offspring against heterologous strains.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fêmea hamster adulta.....	49
Figura 2: Coleta de taquizoítos da cepa RH de <i>Toxoplasma gondii</i> , mantidos em camundongos por inoculações seriadas.....	51
Figura 3: Taquizoítos da cepa RH de <i>Toxoplasma gondii</i> , e, líquido peritoneal, em aumento de 20X.....	52
Figura 4: Administração de medicação via oral por gavage, para hamster (esquerda) e em aumento maior da cânula utilizada (direita).....	52
Figura 5: Instante do acasalamento entre hamsters.....	53
Figura 6: Pesagem de fêmea hamster antes de ser alocada com o macho para reproduzir.....	54
Figura 7: Fêmeas hamsters com seus recém-nascidos.....	55
Figura 8: Filhotes de hamster recém-nascidos.....	55
Figura 9: Retirada dos pulmões e fígado de filhotes de hamsters recém-nascidos para o bioensaio em camundongos.....	56
Figura 10: Homogeneização dos órgãos de filhotes de hamsters, para o bioensaio em camundongos.....	56
Figura 11: Procedimento de diluição de oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i> , no Laboratório de Protozoologia da FAVET-UFRGS.....	57
Figura 12: Colheita de sangue via retro-orbital em camundongo anestesiado.....	59
Figura 13: Taquizoítos de <i>T. gondii</i> da cepa RH observado durante focalização para realizar a quantificação na Câmara de Neubauer.....	62

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1: Número de óbitos/dia, das fêmeas hamsters pós-inoculação pela cepa RH de <i>T. gondii</i>	66
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em soros de suínos no Brasil..	25
Tabela 2 - Prevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em caprinos, no Brasil.....	26
Tabela 3 - Prevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em ovinos, no Brasil.....	27
Tabela 4 - Prevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em eqüinos, no Brasil.....	28
Tabela 5 - Prevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em bovídeos, no Brasil.....	29
Tabela 6 - Prevalência de anticorpos para <i>T. gondii</i> em aves no Brasil.....	30
Tabela 7: Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com oocistos de ME49, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	64
Tabela 8: Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose experimental na segunda prenhez de hamsters, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	64
Tabela 9: Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com 10 ² oocistos da cepa Prugnialud durante a prenhez, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	65
Tabela 10: Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com 10 ³ oocistos da cepa Prugnialud durante a prenhez, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	65
Tabela 11: Imunidade conferida por uma cepa incompleta (RH) em fêmeas hamsters, medicadas conforme protocolo B, medidas pela Aglutinação Direta.....	67
Tabela 12: Imunidade conferida por uma cepa incompleta (RH) em fêmeas hamsters, medicadas conforme protocolo C e observadas por parâmetros clínicos...	67
Tabela 13: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com Prugnialud (10 ³ oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	68
Tabela 14: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com a cepa RH e desafiadas com Prugnialud (10 ³ oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	69
Tabela 15: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M3 (10 ³ oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.	70
Tabela 16: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamster inoculadas com RH (10 ³ taquizoítos) e desafiadas com M3 (10 ³ oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.	70
Tabela 17: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com com a cepa Prugnialud (10 ⁴ bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.	71
Tabela 18: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10 ³ e 5 x 10 ⁴ taquizoítos) e desafiadas com Prugnialud (10 ⁴ bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.	72

Tabela 19: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com Prugniaud (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	73
Tabela 20: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com Prugniaud (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.	73
Tabela 21: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com Prugniaud (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	74
Tabela 22: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com Prugniaud (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	74
Tabela 23: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M7741 (10^4 bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	75
Tabela 24: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com M7741 (10^4 bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	75
Tabela 25: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M7741 (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	76
Tabela 26: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com M7741 (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	76
Tabela 27: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M3 (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	77
Tabela 28: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com M3 (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

AD: Aglutinação direta

°C: Grau centígrado

ELISA: Ensaio imunoenzimático

ELFA: Método imunoenzimático com detecção fluorescente

g: grama

HAI: Hemaglutinação indireta

IFI: Imunofluorescência indireta

IFN- γ : gama interferon.

IgM: Imunoglobulina M

IgG: Imunoglobulina G

IGA: Imunoglobulina A.

I.P.: intraperitoneal

ISAGA: Aglutinação por imunoabsorção

ISOCOMS: linhas de viscosidade igual

Kg: kilograma

2-ME: 2 mercaptoetanol

MEIA: Ensaio imunoenzimático em micropartículas

min: minuto

mg: miligrama

mL: mililitro

NaCl: Cloreto de sódio

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: Reação de Polimerase em Cadeia

PBS: Tampão fosfato salino

s.c: subcutânea

SDZ: Sulfadiazina

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

T. gondii: *Toxoplasma gondii*.

UI: Unidades internacionais

μ m: micrômetro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
3. HIPÓTESES.....	18
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
4.1. <i>Toxoplasma gondii</i>	19
4.1.1. Definição.....	19
4.1.2. Histórico.....	19
4.1.3. Taxonomia.....	20
4.1.4. Morfologia.....	20
4.1.5. Ciclo Biológico.....	21
4.1.6. Transmissão.....	21
4.1.7. Sinais Clínicos e soroprevalência de anticorpos.....	22
4.1.7.1. Humanos.....	22
4.1.7.2. Animais.....	24
4.1.8. Imunidade e Patogenicidade.....	30
4.1.9. Modelos experimentais para o estudo de Toxoplasmose Congênita.....	36
4.1.10. Diagnóstico.....	43
4.1.11. Profilaxia.....	45
5. Materiais e Métodos.....	48
5.1. Animais.....	48
5.1.1. Particularidades sobre a espécie.....	48
5.1.2. Manejo laboratorial.....	48
5.2. Cepas de <i>Toxoplasma gondii</i>	50
5.3. Métodos para detectar a gestação dos hamsters.....	53
5.4. Métodos para a detecção da infecção transplacentária (Bioensaio).....	54
5.5. Obtenção de oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i>	57
5.6. Determinação do índice de proteção vacinal.....	58
5.7. Tratamento estatístico dos resultados.....	58
5.8. Medidas para a proteção biológica das pessoas envolvidas no projeto de trabalho	58
5.9. Experimentos.....	58
5.9.1. Experimento 1: Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose.....	58
5.9.2. Experimento 2: Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose.....	60
5.9.3. Experimento 3: Sobrevivência após a infecção com a cepa RH e medicação.....	60
5.9.4. Experimento 4: Proteção com cepa RH contra oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i>	62
6. RESULTADOS	64
7. DISCUSSÃO.....	78
8. CONCLUSÕES.....	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
<i>Toxoplasmas gondii</i> : Congenital transmission in a hamster model	113
Toxoplasmose animal no Brasil.....	127

1. INTRODUÇÃO

A frequência da toxoplasmose congênita humana se encontra entre 1 a 6 de cada mil crianças nascidas vivas dependendo do país. Apesar da maioria dos recém-nascidos infectados serem assintomáticos, pode ocorrer desenvolvimento de seqüelas em uma proporção significativa nestes pacientes (Remington & Desmonts, 1990). Além disso, a reativação de uma infecção latente *Toxoplasma gondii* é freqüentemente mortal em pacientes imunossuprimidos devido a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, terapia anticancerígena ou transplante de órgãos (Luft & Hafner, 1990). Por outra parte, *T. gondii* é uma das causas mais importantes de aborto ovino de natureza infecciosa (Freyre *et al.*, 1999a).

Os resultados de investigações realizadas indicam, que no Uruguai nascem anualmente, cerca de 150 crianças toxoplásmicas e que a proporção mensurável das perdas por aborto ovino toxoplásmico são de 2 a 5 milhões de dólares anuais (Freyre & Fálcon, 1989). Segundo Freyre *et al.* (1990), que mediram a prevalência em humanos em Montevideo, a infecção começa elevada entre 1-5 anos (30%), alcançando máximos de 82-86% aos 56-65 anos. No Brasil a prevalência de anticorpos varia de 54% no Centro-Oeste a 75% no Norte (Ricciardi *et al.* 1978 apud Frenkel, 1997).

A prevenção da toxoplasmose humana congênita se efetua geralmente de forma eventual, com base na detecção da infecção durante a gestação, e no tratamento das mães infectadas. Este sistema é de moderada eficácia. A isto contribui que muitas mães começam a vigilância sorológica, em etapas consideravelmente avançadas de sua gestação, e que só uma parte delas regressa para nova checagem, e que com frequência não se interpretam corretamente os resultados sorológicos. Também deve-se considerar que este método é mais terapêutico que preventivo, pois com certa frequência, quando se instaura o tratamento específico já ocorreram lesões que não reverterem com o tratamento, apenas detém (Remington; Desmonts. 1990).

Como alternativa ideal para a prevenção do problema assinalado, se encontra o desenvolvimento de vacinas antitoxoplásmicas (Dubey, 1996b; Freyre, 1998; Nielsen *et al.*, 2000). A vacinação contra *T. gondii* têm o objetivo de reduzir o risco fatal, reduzir o número de cistos e prevenir a formação de oocistos (Dubey, 1994). A vacinação de animais tem também o objetivo de minimizar as perdas econômicas por abortos (Dubey, Lindsay, Speer 1998). Não existem vacinas aplicáveis ao ser humano (Nielsen *et al.*,

2000), para prevenir a toxoplasmose congênita ou a toxoplasmose aguda mortal em pessoas imunodeficientes (Remington; Desmonts, 1990; Luft; Hafner, 1990).

Os modelos rato e camundongo têm sido usados para o estudo da transmissão congênita e da imunidade contra a toxoplasmose (Dubey & Shen, 1991; Zenner *et al.*, 1993; Roberts, Brewer; Alexander, 1994; Thouvenin *et al.*, 1997; Dubey; Frenkel, 1998; Paulino & Vitor, 1999; Freyre *et al.*, 1999a; Freyre *et al.*, 2003 a/b; Freyre *et al.*, 2006a/b/c). É importante também, contar com mais de um modelo para testar imunógenos, pois diferentes espécies animais têm respostas imunes divergentes ao mesmo imunógeno (Gupta & Siber, 1995).

2. OBJETIVOS:

O objetivo geral do presente trabalho foi então, verificar a aplicabilidade de um modelo hamster para o estudo da imunidade contra a toxoplasmose congênita. Os objetivos específicos foram:

- 1) verificar a transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* durante o estágio crônico da infecção,
- 2) verificar a transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* durante o estágio agudo da infecção,
- 3) verificar a ocorrência da transmissão lactogênica do *Toxoplasma gondii* no desenho experimental proposto, e
- 4) questionar a proteção contra a toxoplasmose congênita, conferida pela imunidade estéril e mediante a premunicação.

Entende-se que os objetivos específicos propostos, tendem a satisfazer as hipóteses primárias que sustentam a viabilidade do modelo hamster.

3. HIPÓTESES

As hipóteses de trabalho que sustentam estes objetivos são as seguintes:

Hipótese A: (Para o objetivo No. 1)

Esta hipótese postula que a transmissão congênita do *T. gondii* durante a infecção crônica em hamsters, é nula ou mínima. Para a validade deste modelo esta transmissão não deverá ocorrer. Será tolerável que ocorra com baixa frequência. Esta condição permitirá imunizar as fêmeas antes da gestação, e confirmar que a própria imunização não resultará em fonte de infecção na gestação posterior. A validade desta hipótese será testada no experimento No. 1.

Hipótese B: (Para o objetivo No. 2 e 3)

Esta hipótese postula que, a transmissão congênita do *T. gondii* durante a infecção aguda, em hamsters, é muito frequente. Para a validade deste modelo, esta transmissão deveria ocorrer em pelo menos 80% das oportunidades. Esta condição permitiria efetuar desafios em fêmeas gestantes imunizadas, assim como constituir grupos controles de fêmeas gestantes não imunizadas, nas quais a transmissão congênita deverá ocorrer. Ao mesmo tempo é necessário determinar se existe transmissão lactogênica de *T. gondii* e se eventualmente esta via de transmissão não é mais frequente que a transmissão congênita, o que poderia causar erros de interpretação dos resultados. A validade desta hipótese será testada no Experimento No. 2.

Hipótese C: (para o objetivo No. 4)

Esta hipótese postula que é possível imunizar as fêmeas hamsters antes da gestação, desafia-las durante a gestação, e alcançar níveis promissores de proteção contra a toxoplasmose congênita. Para a validade deste modelo, não deverá ocorrer toxoplasmose congênita em pelo menos 80% das mães previamente imunizadas e desafiadas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. *Toxoplasma gondii*

4.1.1. Definição

Toxoplasma gondii é um parasito coccídeo intracelular obrigatório (Dubremetz, 1999). Os gatos domésticos (*Felis catus*) e outros membros da família Felidae são os hospedeiros definitivos, por isso, apenas felinos infectados eliminam oocistos deste parasito nas fezes (Bowman, 2006). Os felídeos podem ser chamados de hospedeiros completos, pois também podem ser hospedeiros intermediários, quando apresentam o ciclo extra-intestinal ou tecidual o qual ocorre em muitas outras espécies de vertebrados, incluindo o homem (Taboada & Merchant, 1997; Frenkel, 1997; Dubey, 1998b).

4.1.2. Histórico

O parasito foi descrito independentemente por Nicolle & Manceaux no ano de 1908, em um roedor, o *Ctenodactylus gundi*, na Tunísia e por Splendore, em coelhos no Brasil (Amato Neto & Marchi, 1999; Kawazoe, 2002, 2004). Charles Nicolle era um pesquisador francês que costumava buscar parasitos exóticos em animais selvagens e domésticos. Ao se deparar com pequenos roedores em atitude ereta e agonizante no Cânion de Toujane, levou-os ao Instituto Pasteur de Tunis (Tunísia), onde com a ajuda de Luis Manceaux, encontraram os parasitos em impressões de fígado e baço. Este parasito parecia uma *Leishmania*, mas não foi possível cultivá-lo nos meios usados para este protozoário, mesmo assim lhe foi dado o nome de *Leishmania gondii*, em 26 de outubro de 1908. Nicolle e Manceaux persistiram na pesquisa, capturando mais amostras daqueles roedores para observar a morfologia do parasito e em 8 de fevereiro de 1909 fizeram um novo informe a Academia de Ciências, registrando o parasito com o nome de *Toxoplasma gondii*. Este foi o primeiro caso na história da medicina, onde descreveu se primeiro o agente etiológico e anos depois sua ação patogênica. (Nicolle & Manceaux, 1908/1909; Splendore 1908; Pizzi, 1997).

Em 1913, Castellani encontrou o primeiro caso humano, em uma criança com quadro febril e esplenomegalia. A toxoplasmose congênita foi observada em 1937 por Wolf e Cowen, devido a um caso de meningoencefalomielite em um recém-nascido.

Esse tipo de infecção foi também relatado em 1939, em outro caso de encefalomielite congênita mortal, por Wolf, Cowen e Paige. Só em 1970, Hutchinson e colaboradores conseguiram descrever o ciclo biológico e o hospedeiro definitivo deste parasito (Pizzi, 1997).

4.1.3. Taxonomia

Esse parasito é classificado segundo o Comitê de Sistemática e Evolução da Sociedade de Protozoologia (Levine *et al.*, 1980; Levine, 1985):

Reino Protista, Haeckel, 1866

Sub-Reino Protozoa, Goldfuss, 1817

Filo Apicomplexa, Levine, 1970;

Classe Sporozoea, Leukart, 1879;

Subclasse Coccidia, Leukart, 1879;

Ordem Eucoccidiida, Léger & Duboseq, 1910;

Subordem Eimeriina, Léger, 1911.

Família Sarcocystidae, Poche 1911;

Sub-família Toxoplasmatinae, Biocca, 1959

Gênero *Toxoplasma*, Nicolle & Manceaux, 1909

4.1.4. Morfologia:

Esse protozoário possui três formas evolutivas: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Os taquizoítos possuem a forma de multiplicação rápida que ocorrem numa infecção aguda; os bradizoítos, contidos no interior dos cistos, multiplicam-se lentamente, nas infecções crônicas ou assintomáticas (Kawazoe, 2002). Os esporozoítos ficam contidos em oocistos pequenos (11-13 μ m) e contém um único esporonte quando eliminado nas fezes, e são resultado ciclo enteroepitelial do parasito. A esporulação ocorre em 1 a 5 dias, ocorrendo a formação de dois esporocistos que contém 4 esporozoítos cada um (Bowman, 2006).

4.1.5. Ciclo Biológico:

O *T. gondii* apresenta dois tipos de ciclo: sexuado ou ciclo enteroepitelial e assexuado ou ciclo extra-intestinal. Estes dois diferentes padrões de multiplicação ocorrem em felídeos, após a infecção. O ciclo enteroepitelial ou intestinal ocorre apenas nos felídeos que são os hospedeiros definitivos, e o parasito é encontrado dentro das células do epitélio intestinal. O ciclo extra-intestinal ocorre em todas as espécies que servem de hospedeiros intermediários, sendo que *T. gondii* pode ser encontrado em vários tecidos, células e líquidos orgânicos, como saliva, leite, líquido peritoneal e sangue (Swango, Bankemper; Kong, 1992; Gagne, 2001; Kawazoe, 2002).

4.1.6. Transmissão:

O índice de infecção em uma população humana depende da combinação de padrões de vida e de cultura, tais como o local onde as crianças costumam brincar, o fato de morarem em casas ou apartamentos, presença de pássaros e camundongos funcionando como hospedeiros intermediários, o modo de preparo da carne consumida, entre outros (Frenkel, 1997). Para a população humana, a infecção por *T. gondii* é relacionada ao consumo de carne mal cozida contendo cistos deste parasito (Morris, 1996). Além desse meio, o homem pode se contaminar por infecção congênita ou por ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos provenientes de fezes de felídeos (Dubey, 1998b).

Vários autores relataram surtos de toxoplasmose humana a partir de consumo de carne mal cozida com presença de bradizoítos, e pelo consumo de água, verduras e outros alimentos contaminados com oocistos do protozoário (Coutinho, Lobo & Dutra, 1982; Dubey *et al.* 1986b; Navarro, Freire & Passos, 1994; Passos, Bonametti & Passos, 1994, Bonametti *et al.*, 1997; Bowie *et al.*, 1997; Choi *et al.*, 1997; Warnekulasuriya, Johson & Holliman, 1998; Garcia *et al.*, 1999b). Nos alimentos de origem animal o *T. gondii* é mais prevalente nos produtos suínos, seguido dos ovinos e caprinos (Garcia *et al.* 1999b). Martins *et al.* (1990), verificaram que a carne suína apresentou maior frequência de infecção que seus derivados e que a carne bovina. De acordo com Dubey (1986), carne fresca e lingüiça de porco são, provavelmente, a principal fonte de

toxoplasmose humana em muitos países seguida das carnes de cabra, ovelha e de galinha. Segundo Navarro *et al.* (1992), o fato de grande parte das lingüiças no Brasil, serem processadas artesanalmente, contribui para aumentar o risco da doença. Amato Neto *et al.* (1995) em sociedades onde existia alto consumo de carnes cruas ou mal cozidas e regiões com falta de saneamento encontraram taxas bem mais altas de infecção.

A infecção congênita ocorre somente quando a mulher, não imune, é infectada durante a gravidez e a severidade da doença, depende do período gestacional e da capacidade dos anticorpos maternos em proteger o feto (Chemello, Eckert; Teixeira, 1998; Dubey, 1998b). Normalmente uma mãe não gera mais do que uma criança com toxoplasmose congênita. Um estudo sorológico com mais de 800 mães que tiveram filhos com esse tipo de infecção mostrou que não houve nenhum irmão com toxoplasmose congênita, com exceção de 14 pares de gêmeos (Renold, Sugar & Chaves 1992).

4.1.7. Sinais Clínicos e soroprevalência de anticorpos

4.1.7.1. Humanos

A incidência da toxoplasmose congênita é pequena no primeiro trimestre da gestação, mas as lesões fetais são graves. Estima-se que 17% dos fetos são infectados e 80% destes sofrem doença severa. Infecções no segundo trimestre resultam em 25% de fetos infectados e destes, 30% apresentam a doença severa. Quando a primo-infecção materna ocorre no último trimestre a incidência de infecção fetal é de cerca de 70% ou mais e as lesões são menos severas (Acha; Szyfres, 1987; Camargo, 1996).

A infecção congênita ocorre quando a mulher, adquire a primoinfecção pelo *T. gondii* durante a gestação, e quanto mais precoce isso ocorre mais severos serão os sinais clínicos (Andrade *et al.*, 2004). No primeiro trimestre de gestação, se a infecção dá-se no processo de nidação, podem ocorrer endometrites e aborto entre 6 a 8 semanas. Se a infecção ocorre na etapa de formação da placenta, pode ocorrer placentite e aborto entre o terceiro e quarto mês, e se a gestação tiver continuidade, nascem com tantos danos que são incompatíveis com a vida (Pizzi, 1997). Quando a infecção, ocorre no

segundo trimestre da gestação, as crianças podem nascer com a Tétrade de Sabin (macro ou microcefalia, coriorretinite, calcificações cerebrais e retardo mental) (Pizzi, 1997; Kawazoe, 2002). Se ocorrer no terceiro semestre, a infecção por *T. gondii*, causa leve déficit intelectual, retinocoroidite bilateral com ou sem estrabismo ou nascimento de crianças aparentemente normais, que apresentam cistos em estado de latente vindo a manifestar a doença mais tardiamente, na primeira ou segunda década de vida, e isso pode ser devido às modificações hormonais (Pizzi, 1997). Carruthers & Suzuki (2007), discute o envolvimento da infecção congênita de *T. gondii* na etiologia da esquizofrenia e relata que outros autores detectaram elevados níveis de IgG anti-*toxoplasma* em pacientes com primeira manifestação de esquizofrenia.

A toxoplasmose pós-natal geralmente, não é tão grave, somente 10 a 20% de indivíduos imunocompetentes infectados após o nascimento apresentam sintomas semelhantes a uma gripe, em decorrência da não efetividade do sistema imune (Morris, 1996; Chemello, Eckert; Teixeira 1998). Alterações oculares, estão entre as mais observadas por toxoplasmose (Garcia *et al.*, 1999a; Silveira, 2001). A toxoplasmose apresenta um quadro grave em indivíduos com o sistema imune comprometido, como pessoas como o vírus da Imunodeficiência Adquirida, pacientes em tratamento quimioterápico de neoplasias, ou receptores de órgãos, causando principalmente encefalite e retinite. (Pizzi, 1997; Kawazoe, 2002).

Estima-se, que 30 a 40% dos adultos, nos EUA possuem anticorpos para *T. gondii*. (Dubey, 1994). Inquéritos sorológicos realizados em diversos países indicam uma infecção de 40 a 50% em humanos adultos sadios entre 30 e 40 anos de idade. Dados, esses, que variam de acordo com fatores geográficos e climáticos, hábitos alimentares, tipo de trabalho, higiene do meio ambiente e presença de gatos infectados (Ulon, 1996). No Brasil, segundo várias pesquisas, a prevalência de anticorpos varia de 30,34% a 97,1% (Corrêa, Hyakutake; Tognoli, 1972; Ishizuka, 1978a; Chaplin *et al.*, 1984; Chaplin *et al.*, 1987; Souza, 1995; Garcia & Navarro, 1995; Chaplin *et al.*, 1997; Katzer *et al.*, 1997; Garcia *et al.*, 1999a; Araújo *et al.*, 2000).

4.1.7.2. Animais:

A toxoplasmose atinge também várias espécies animais. Nos cães provoca principalmente alterações musculares, respiratórias e gastrintestinais. Em outras espécies, que estão envolvidas na transmissão para humanos por ingestão de carne, também ocorrem alterações importantes, destacando-se os suínos, seguidos de caprinos e ovinos (Dubey, 1999).

Nos suínos a infecção pós-natal é mais freqüente que a transplacentária, ocorrendo doença clínica em neonatos e leitões jovens, mas também ocorrem abortos e natimortos (Dubey & Beattie, 1988; Blood & Radostitis, 1991; Freyre et al., 1991). Em diferentes tipos de criações suínas, utilizando várias técnicas os autores encontraram prevalências que variam de 0,79% a 90,4%, dependendo da região estudada, do modo de criação e da técnica utilizada (Tabela 1)

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos para *T. gondii* em soros de suínos no Brasil.

ESTADO	TESTE	FREQÜÊNCIA	REFERÊNCIAS
SP e RS	HAI	22,8%	Amaral; Santos & Rebouças (1975)
MG	IFI	29,9%	Schenk, Lima & Viana (1976)
SP	IFI	22,5%	Correa, Salata & Oliveira (1978)
SP	HAI	24,68%	Santos, Amaral & Rebouças (1978)
SP	IFI	32,8%	Ishizuka (1978b)
SP	IFI	Leitões 52,17 Crescimento 48,83 Fêmeas 45,83 Terminação 45,40	Vasconcelos, Costa & Ávila (1979)
RS	HAI	7,2%	Silva <i>et al.</i> (1981b)
RS	HAI	7,4%	Chaplin & Silva (1984)
MG	IFI	33,4%	Passos & Figueiredo (1984)
MG	IFI	Intensivo 54% Semi-intensivo 49,2%	D'angelino & Ishizuka (1986)
	HAI	Intensivo 46% Semi-intensivo 42, 7%	
PR	IFI	34,62%	Vidotto <i>et al.</i> (1986)
SC	HAI	1,16%	Wentz, Sobestiansky & Chaplin (1988)
PR	IFI	37,84%	Vidotto <i>et al.</i> (1990)
MG	IFI	90,4%	Guimarães <i>et al.</i> (1992)
RS	HAI	18%	Grünspan <i>et al.</i> (1995)
RJ	HAI	0,79%	Souza (1995)
	IFI	0,88%	
GO	HAI	27,74%	Matos <i>et al.</i> (1999)
RS	IFI	7,3%	Araujo (1999)
	ELISA	9,5%	
PR	IFI	24%	Garcia <i>et al.</i> (1999b)
SP	ELISA	9,57	Suárez, Andrade Jr., Galisteo (1999)
SP	ELISA	8,5	Meireles (2001)
PR	IFI	15,35%	Tsutsui <i>et al.</i> (2001)
PR	IFI	42,85	Carletti <i>et al.</i> (2002)
RS	HAI	20	Fialho & Araújo (2003)
	IFI	33,75	
PR	IFI	4	Carletti <i>et al.</i> (2005)
SP/ PE	IFI	2,11	Caporali <i>et al.</i> (2005)
	MAD	1,32	
RS	HAI	9,2	Pereira (2005)
	IFI	13,9	
RO	MAT	37,5	Cavalcante <i>et al.</i> (2006)
	IFI	43,7	
SP	IFI	8,5	Lima <i>et al.</i> (2007)
MG/ SP	MAD	0	Pezerico <i>et al.</i> (2007)
PR	IFI	8,54	Moura <i>et al.</i> (2007)
PR	IFI	25,5	Millar <i>et al.</i> (2008)

Abortos também são relacionados em caprinos infectados com *T. gondii* (Munday, Mason, 1979; Dubey, 1985). No Brasil podemos destacar os trabalhos relatados na Tabela 2, que encontraram prevalências de 10 a 92,4%.

Tabela 2- Prevalência de anticorpos para *T. gondii* em caprinos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
BA	HAI	10	Amaral, Santos & Rebouças (1978)
RS	HAI	16,1	Araujo <i>et al.</i> (1984)
MG	IFI	87	Chiari, Lima & Antunes (1985)
MG	IFI	36,1% caprino leiteiro, 11,4% corte 62,9% alimentação e renda familiar	Machado & Lima (1987)
MG	IFI	92,4% área peri urbana Belo Horizonte 79% área urbana Pedra Azul 32% área rural Pedra Azul.	Chiari <i>et al.</i> (1987)
RS	HAI	23	Braccini <i>et al.</i> (1992)
RJ	IFI	15,84	Serra-Freire, Norberg & Gazeta (1994)
PR	IFI	30,71	Sella <i>et al.</i> (1994)
MG	HAI	11,9	Figueiredo, Cabral & Silva (1997)
	IFI	10	
PB	IFI	26,8	Alves <i>et al.</i> (1997)
BA	AL	28,93	Gondim <i>et al.</i> (1999)
SP	IFI	14,47	Mainardi <i>et al.</i> (2000)
SP	ELIS A	17	Meireles (2001)
SP	IFI	8	Silva, Cutolo & Langoni (2002)
	MA D	11	
PE	IFI	10,33	Silva <i>et al.</i> (2003)
RS	HAI	19,4	Maciel & Araújo (2004)
	IFI	30	
SP	IFI	28,7	Figliuolo (2004b)
BA	IFI	11,53	Uzêda <i>et al.</i> (2004)
MG	IFI	45,8	Carneiro (2006)
	ELIS A	42,8	
PB	IFI	24,5	Faria <i>et al.</i> (2007)
RN	IFI	17,1	Lima <i>et al.</i> (2008)
CE	ELIS A	25,1	Cavalcante <i>et al.</i> (2008)

Em ovinos a toxoplasmose pode causar abortos, natimortos e mortalidade neonatal. Também pode ocorrer reabsorção embrionária e assim proprietários acabam considerando essas fêmeas, como sendo estéreis (Dubey & Towle, 1986; Freyre & Fálcon, 1989). A patologia é semelhante ao que ocorre nas mulheres e também ocorre proteção durante prenhes subsequente (Innes, 1997). As prevalências para este espécie variam entre 8,4% a 61% (Tabela 3).

Tabela 3 - Prevalência de anticorpos para *T. gondii* em ovinos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
RS	HAI	23	Amaral, Santos & Rebouças (1978)
RS	SF	39	Larsson <i>et al.</i> (1980)
RS	IFI	9,8	Silva, Costa & Souza (1980)
RS	IFI	12,8	Silva <i>et al.</i> (1981c)
RS	HAI	Uruguaiana 18,2 Marau 18,6	Zonta <i>et al.</i> (1987)
RS	AL	10	Martins & Hancock (1991)
RS	HAI	35,2	Braccini <i>et al.</i> (1992)
SP	HAI	17,5	Oliveira Sequeira <i>et al.</i> (1993)
	IFI	22,5	
PR	IFI	47,83	Freire <i>et al.</i> (1995)
RS	HAI	22	Ulon (1996)
	IFI	24	
SP	HAI	30,4	Rosa <i>et al.</i> (1997)
	IFI	55,11	
RS	AL	44	Martins <i>et al.</i> (1998)
BA	AL	18,75	Gondim <i>et al.</i> (1999)
PR	IFI	51,8	Garcia <i>et al.</i> (1999b)
SP	ELISA	31	Meireles (2001)
SP	IFI	7,7	Silva & Langoni (2001)
SP	IFI	23	Silva, Cutolo & Langoni (2002)
	MAD	27	
PE	IFI	35,3	Silva <i>et al.</i> (2003)
PR	IFI	54,3	Ogawa <i>et al.</i> (2003)
RS	HAI	13,6	Escopelli (2004)
	IFI	15,2	
SP	IFI	34,7	Figliuolo <i>et al.</i> (2004a)
DF	IFI	38,22	Ueno (2005)
MG	IFI	43,2	Carneiro (2006)
	ELISA	31,2	
RS	HAI	19,5	Silva & Rue (2006)
	IFI	44,8	
PR	IFI	7	Moura <i>et al.</i> (2007)
PR	IFI	51,5	Romanelli <i>et al.</i> (2007)

Em equinos pode ocorrer hipertermia, perda de apetite, prostração, diarreia, secreção ocular mucosa e corrimento nasal seroso (Marques *et al.*, 1998). Os valores observados por vários autores vão de 1,5 a 47,05% (Tabela 4).

Tabela 4 - Prevalência de anticorpos para *T. gondii* em equinos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
RS	HAI	8	Silva <i>et al.</i> (1981a)
MS	IFI	32,80	Laranjeira, Ishizuka & Hyakutaki (1985)
SP	IFI	24,8	Costa <i>et al.</i> (1986)
RS	HAI	2	Braccini <i>et al.</i> (1992)
RS	HAI	59	Barcelos <i>et al.</i> (1997a.)
RJ	IFI	4,42	Gazêta <i>et al.</i> (1997)
SP, PR, MS, MT	IFI	31,55	Vidotto <i>et al.</i> (1997)
PR	IFI	12,1	Garcia <i>et al.</i> (1999a.)
BA	IFI/MAD	1,5	Mendonça <i>et al.</i> (2001)
PR	IFI	28,46	Navarro <i>et al.</i> (2002)
PR	IFI	36,36	Carleti <i>et al.</i> (2002)
SP	IFI	47,05	Villalobos <i>et al.</i> (2005)
MG	IFI	12,82	Naves <i>et al.</i> (2005)

Os bovinos são uma das espécies mais resistentes ao *T. gondii*, considerando-se inclusive que não ocorra persistência dos cistos por toda a vida do hospedeiro, como ocorre em ovinos e humanos (Innes, 1997). As prevalências em bovinos vão de 1,03 a 60% (Tabela 5).

Tabela 5 - Prevalência de anticorpos para *T. gondii* em bovídeos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
MG	IFI	12	Costa & Costa (1978)
SP	IFI	32,3	Costa <i>et al.</i> (1978)
AM	HAI	60	Ferraroni & Marzochi *
AM	HAI	12	Ferraroni <i>et al.</i> (1980)*
RS	HAI	3,4	Silva <i>et al.</i> (1982/83)
RS	HAI	5,4	Chaplin <i>et al.</i> (1984)
MG	IFI	9	Passos, Lima & Figueiredo (1984)
RS	HAI	6,7	Braccini <i>et al.</i> (1992)
PR	IFI	32,34	Marana <i>et al.</i> (1994)
RS	HAI	29,13	Adamy <i>et al.</i> (1995)
RS	HAI	38,78	Lazzarotto <i>et al.</i> (1997)
MS	HAI	4,29	Araújo, Carvalho, Balbuena (1998)
BA	AL	Bovinos 1,03 Búfalos 3,85	Gondim <i>et al.</i> (1999)
PR	IFI	25,8	Garcia <i>et al.</i> (1999b)
SP	IFI	49,17	Costa <i>et al.</i> (2001)
MG			
SP	IFI	3,2	Fujii <i>et al.</i> (2001)
SP	ELISA	11	Meireles (2001)
SP	IFI	49,9	Souza <i>et al.</i> (2001a)
PR	IFI	55,71	Carleti <i>et al.</i> (2002)
PR	IFI	41,4	Daguer <i>et al.</i> (2004)
PR	IFI	26	Ogawa <i>et al.</i> (2005)
BA	IFI	9,8	Oliveira <i>et al.</i> (2005)

* apud Vidotto (1992)

**apud Frenkel (1997)

Nas aves já foi observado diarreia esverdeada, dificuldade respiratória, esplenomegalia, coração pálido e morte (Meireles *et al.*, 1995). As prevalências em aves vão de 2,8 a 40% (Tabela 6).

Tabela 6 - Prevalência de anticorpos para *T. gondii* em aves no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
AM	HAI	41,18	Ferraroni & Marzochi (1978)*
RS	HAI	2,8	Araújo <i>et al.</i> 1989
RS	HAI	30,32	Barcelos <i>et al.</i> 1997b
PR	IFI	10,3	Garcia <i>et al.</i> (2000)
PR	MAT	40	Dubey <i>et al.</i> (2003)

* apud Vidotto (1992)

Nos roedores são relatadas alterações como diarréia, pneumonia e/ou morte (Ukhov & Shevkunova, 1964; Chinchilla *et al.*, 1993; Dubey, 1996a; Dubey, 1998a; Sevá *et al.*, 2006).

4.1.8. Imunidade e Patogenicidade

T. gondii é capaz de parasitar qualquer célula nucleada, penetrando ativamente na célula hospedeira utilizando seu citoesqueleto (Carruthers, 2002). Essa penetração ocorre por movimentos espirais do corpo celular e pelo rearranjo dos microtúbulos que rodeiam a conóide que, quando entra em contato com a célula hospedeira se expande em direção a ela (Oliveira-Lima *et al.*, 2002). A invasão ocorre em 20 a 30 segundos e forma-se um vacúolo por invaginação da membrana plasmática envolta do parasito (Denkers & Butcher, 2005).

A imunidade protetora contra o *T. gondii* é específica e ocorre através dos mecanismos humoral e celular (Pizzi, 1997; Chemello, Eckert, Teixeira, 1998; Kawazoe, 2002). São os glóbulos brancos as células mais importantes na resposta imune, e se dividem em 2 grupos: fagócitos (macrófagos, polimorfonucleares, monócitos, e células citotóxicas NK) e linfócitos (T e B). Segundo Camargo (1995) e Camargo (1996), as células do sistema imune que freiam o parasita são monócitos e macrófagos, com o auxílio de anticorpos específicos da classe IgM e IgA num primeiro momento, e a seguir, os linfócitos T sensibilizados. É importante lembrar que os taquizoítos viajam pela circulação sanguínea no interior dos leucócitos, protegidos dos anticorpos (Frenkel, 1986).

O primeiro contato do parasito com o organismo é com os macrófagos (Pizzi, 1997). Segundo Ferreira (2005), os macrófagos estão envolvidos na resposta

inflamatória contra *T. gondii* e podem contribuir para a resistência dos camundongos BALB/c e para a susceptibilidade da linhagem C57BL/6. Também Gil *et al.* (2002), evidenciaram em roedores que a interação macrófago e taquizoítos da cepa RH causou o aumento de 75% na concentração de macrófagos na conjuntiva ocular. Quando se inicia a infecção por *T. gondii*, os macrófagos englobam os taquizoítos nos fagossomos, onde os parasitos se multiplicam. Esta multiplicação pode ser inibida quando ocorre fusão dos fagossomos com os lisossomos e estes devem ser estimulados pelo IFN- γ . Uma vez ativados os macrófagos matam o parasito por ruptura oxidativa (Kawazoe, 2002).

Os macrófagos, primeiramente, apresentam os antígenos aos linfócitos T, que então, transforma-se em linfócitos T sensibilizados especificamente para o *T. gondii*. Esses linfócitos T pertencem, principalmente, a classe CD4+, mas também a CD8+ (Benvissuto, 1997; Pizzi, 1997). As células CD8+ predominam na fase aguda da infecção, e as CD4+ na fase crônica (Pizzi, 1997). Os linfócitos T CD4+ pertencem a duas subclasses: TH1, que secretam interleucina 2 (IL-2) e interferon γ (IFN- γ) e TH2, que secretam IL-4 e 5. As interleucinas, são citocinas ou também chamadas de linfocinas, fatores solúveis, que servem para comunicação entre as células que fazem parte da resposta imune. Os IFN- γ (que também são linfocinas) ativam as células monucleares do sangue periférico (macrófagos), aumentando sua atividade parasiticida e inibindo a replicação dos parasitos no interior de fibroblastos e células endoteliais. (Benvissuto, 1997; Pizzi, 1997). Segundo Suzuki, Conley & Remington (1989), pesquisando a importância da IFN- γ para a prevenção da encefalite toxoplásmica em camundongos, observaram que a diminuição desta citocina em camundongos cronicamente infectados levou a reativação de cistos no cérebro, causando inflamação semelhante a dos pacientes com SIDA.

Após a resposta imunomediada por células e liberação do IFN- γ , ocorre a presença prolongada do parasito nos tecidos do hospedeiro, o que pode induzir uma estimulação da hipersensibilidade retardada (Pizzi, 1997; Kawazoe, 2002).

Os linfocitos T TH2 ajudam na síntese de anticorpos IgG e IgM, que são responsáveis pela eliminação dos parasitas extracelulares circulantes, colaborando com os macrófagos com a participação do sistema complemento, que lisa o parasita ou facilita sua fagocitose pelo fenômeno de imunoaderência (Benvissuto, 1997; Pizzi, 1997).

Os anticorpos humorais atuam sobre as formas livres do sangue, ou seja, sobre as formas extracelulares, causando perfuração da membrana celular deste protozoário na presença de um complemento, produzindo escapamento de citosol (Frenkel, 1985). Com relação a esses mecanismos humorais, inicialmente ocorre a produção de IgM e IgA, caracterizando a fase aguda da doença, seguida da produção de IgG. O aumento nos títulos de IgM é geralmente de curta duração, positivando a partir da primeira semana pós-infecção e alcançando a concentração máxima em um mês. As IgG podem persistir com títulos elevados por um longo tempo, sendo detectado em 12-14 dias e alcançando um pico máximo em 2-3 meses (Camargo, 1995; Pizzi, 1997; Chemello, Eckert, Teixeira, 1998; Kawazoe, 2002).

As células intestinais entram em contato com o parasito durante a penetração intestinal e fornecem a primeira linha de defesa contra a invasão. A infecção pelo *T. gondii* provoca um aumento na produção de IgA contra o parasito no intestino (Galisteo, 2004). Pode ocorrer também, um fenômeno chamado tolerância imunológica, que ocorre quando o antígeno administrado por via oral em doses sucessivas. Com isso, é atenuada ou extinguida a resposta imune aquele antígeno. Logo, obtêm-se supressão da resposta humoral e da mediada por células, após a administração do antígeno por via oral e subseqüentes imunizações com o mesmo antígeno (Weiner & Rees, 1999; Janeway *et al.*, 2002). A resposta imunológica a antígenos administrados por via oral é diferente da resposta clássica a antígenos encontrados em outros locais. As duas principais diferenças estão nos altos níveis de produção de IgA pela mucosa e no favorecimento à tolerância do linfócito T, ao invés de sua ativação (Weiner, 2001). Segundo Galisteo (2004), imunizações por via oral devem ser melhor estudadas, devido a ser uma rota natural de entrada de parasitos para o hospedeiro.

Toxoplasma gondii é capaz de colonizar todos os órgãos, tanto dos humanos como dos animais, tendo especial afinidade pelo sistema nervoso, especialmente na sua forma crônica, onde permanece principalmente no sistema nervoso central e coriorretina. Os bradzoítos de *T. gondii* podem persistir tempo no cordão espinhal e cerebral e como cistos viscerais devido à imunidade ser pouco efetiva nos órgãos neuronais. Essas formas também podem persistir na placenta meses depois do início da infecção na fêmea. Na maioria das vezes, infecta o organismo sem causar alteração clínica aparente, devido sua forma crônica (Grünspan, 1995; Dubey, 1998b).

Cowen E Wolf (1950) inocularam fêmeas de camundongos prenhes com *Toxoplasma* via vaginal e observaram lesões na placente em entre o 3°. e 9°. dia pós-inoculação.

Chinchilla *et al.* (1993) inocularam camundongos e observaram formas circulando no sangue em uma hora após inoculação. Também 15 dias mais tarde foram observados parasitos, que foram desaparecendo à medida que foram se formando cistos no cérebro. Após imunossupressão com acetato de cortisona, houve invasão da circulação sanguínea por *T. gondii* em camundongos e hamsters infectados cronicamente, o que causou algumas mortes.

Dubey (1996a), estudaram a patogenicidade de oocistos da cepa VEG para ratas Sprague Dawley. Três de cinco ratas que ingeriram 1 milhão de oocistos morreram 6 a 9 dias após, com toxoplasmose aguda. Cistos foram encontrados no cérebro de todas as ratas que ingeriram mais de 10 oocistos e em 3 de 6 ratas inoculadas com 1 oocisto. Dubey (1997a), estudaram a distribuição dos cistos inoculando 10 fêmeas adultas Sprague-Dawley com: 1 oocisto (3 ratas: grupo A), 10^5 oocistos (3 ratas: grupo B) da cepa VEG ou 10^4 oocistos da cepa GT-1 (4 ratas: grupo C). Todos os grupos de ratas foram sacrificados com 76, 240 e 443 dias pós-inoculação, respectivamente. Foram encontrados cistos no cérebro das 10 ratas, por microscopia direta. Nos outros órgãos foi realizada digestão péptica e bioensaiados em camundongos, sendo encontrados cistos em 3 tecidos extra-neurais das ratas do grupo A, 6 do grupo B e 10 do grupo C. Dubey *et al.* (1999) inocularam ratas (Sprague-Dawley e Wistar) com 1.000.000 taquizoítos RH, que permaneceram clinicamente normais, enquanto camundongas (Swiss Webster), inoculados com apenas um taquizoíto morreram com toxoplasmose aguda.

Dubey (1998a), inoculou ratos e camundongos com as cepas, VEG e GT-1. Usando a cepa VEG, todas as ratas permaneceram com infecção sub-clínica, enquanto, 11 de 30 camundongos inoculados com 1.000 bradizoítos morreram de enterites, quando a via foi oral e de pneumonia associada à toxoplasmose aguda, quando inoculadas via subcutânea. Com a cepa GT-1 todos os camundongos morreram, enquanto todas as ratas sobreviveram, apesar da recuperação de cistos do cérebro de todas estas ratas. O autor conclui que a infecção por bradizoítos em ratos varia com a via de inoculação, sendo a oral menos infectante que a subcutânea, e que o presente estudo indica que mesmo poucos bradizoítos são infectivos por via subcutânea (mesmo

1-10 bradizoítos foram infectantes). Em outro trabalho, Dubey (1980), já havia observado que a cepa GT-1, (isolada de caprinos), era altamente patogênica para camundongos. Dubey *et al.* (1997a) inocularam camundongos com oocistos e observaram a rota no organismo, eutanasiando os animais horas após a inoculação. Em 2 horas os esporozoítos já haviam sido liberados e penetrado no epitélio do intestino delgado, após 4 horas havia ainda mais no epitélio e também na lâmina própria do íleo, e 8 horas pós-inoculação estava nos linfonódos mesentéricos. Doze horas depois os taquizoítos já haviam se dividido e após 48hs havia uma grande quantidade destas formas. A disseminação para outros órgãos ocorreu após 4 dias e no 8º dia foi verificada a presença de cistos no cérebro.

Zenner *at al.* (1998), testaram a infecção aguda em ratos e camundongos com 1.200 e 50 cistos de Prugniaud via oral, respectivamente e com 10^5 ou 10^4 taquizoítos de RH via intraperitoneal, respectivamente. Os camundongos infectados com RH tiveram um aumento no número de parasitos nos órgãos e morreram. Os ratos tiveram a infecção do baço, diafragma e pulmões e então, linfonódos mesentéricos e cérebros. Os camundongos inoculados com Prugniaud apresentaram parasitos nos linfonódos mesentéricos, baço e pulmões, seguido de coração e cérebro. Os ratos, com a mesma cepa, tiveram a os linfonódulos mesentéricos como os primeiros a apresentarem parasitos, seguidos nos outros dias da detecção de *Toxoplasma* no baço e pulmões e também no fígado e cérebro, porém com baixa carga parasitária.

Freyre et al (2001b), inocularam grupos de 4-32 ratas com cistos ou bradizoítos livres de 15 cepas de *T. gondii*. Após 2 meses, fizeram bioensaio com seus cérebros em camundongos. Encontraram 78,6% de cérebros infectados. Foram necessários 200 cistos para infectar mais de 90% das ratas, pois quando uma menor dose foi utilizada resultou em 60% de ratas com infecção residual no cérebro. Cistos foram identificados por microscopia em 146 de 411 ratas (35,5%). O número de cistos formados no cérebro das ratas foi na ordem de dezenas a centenas e mais raramente 1 ou 2 mil. As diferenças no número de cistos no cérebro formados com cada dose foram estatisticamente significativos ($P=0,01$).

Freyre *et al.* (2003a) inocularam ratas Wistar com 10^1 e 10^4 oocistos de 6 cepas diferentes e procuraram cistos cerebrais por microscopia. Com os cérebros negativos foi realizado bioensaio em camundongos. Foram encontraram 82% de positivos para cistos cerebrais, seja por visualização microscópica ou por uso de aglutinação direta do soro dos camundongos. Um experimento semelhante havia sido realizado por Freyre *et al.*

(2001b), também em ratas Wistar, onde foram encontrados 78,6% de soros de camundongos positivos pela aglutinação direta, após o bioensaio de cérebros. Freyre *et al.* (2008b) testaram proteção contra a formação de cistos no cérebro e músculos de ratas. Primeiro inocularam ratas com cistos ou oocistos das cepas ME-49, M3 e M7741 e após 30 dias buscaram cistos no cérebro e musculatura pélvica. Com a cepa ME-49 utilizando três doses encontraram 70% no cérebro e 85% na musculatura, mas se considerarmos a maior dose 10^5 foi 100%. Com a M3 na dose 10^2 foi 3/6 no cérebro e 4/6 na musculatura, e na dose 10^3 foi 10/10 no cérebro e 9/10 na musculatura. A cepa M7741 produziu cistos no cérebro em 6/9 inoculados e na musculatura em 2/5.

Em certas circunstâncias a toxoplasmose pode ocorrer em graus variáveis e que pode ocasionar conseqüências severas e fatais, como, certas cepas de maior virulência, uma dose infectante abundante, uma via de penetração muito favorável, e um hospedeiro com suas defesas orgânicas abaixo do habitual (Freyre & Falcón 1989). Em indivíduos que apresentam funcionamento das células-T deficiente, a toxoplasmose pode, causar sintomatologia grave. Este grupo de indivíduos suscetíveis inclui receptores de órgãos transplantados, pacientes com certos tipos de câncer e pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (Alexander & Hunter, 1998).

Freyre *et al.* (2008a), pesquisando pulmão, fígado e cérebro de recém-nascidos de ratas infectados bradizoítos de *T. gondii*, encontraram maior presença do protozoário no pulmão, fígado e cérebro na proporção: 34, 33 e 12; e dos nascidos de ratas infectadas com oocistos, 15, 11 e 4 recém-nascidos. Quando pesquisado fígado e pulmão juntos foi isolado *T. gondii* em 44 recém-nascidos das ratas inoculadas com bradizoítos, e 18 das inoculadas com oocistos. Apenas 1 dos recém-nascidos possuía *T. gondii* exclusivamente no cérebro.

A estrutura genética das cepas de *T. gondii*, foi estudada por Howe & Sibley (1995), demonstrando a existência de três tipos clonais predominantes chamadas Tipo I, II e III. Tipo I está associada com virulência aguda em camundongos, a II induz patologia crônica em linhagens suscetíveis de camundongos e a III é a menos virulenta. Nos humanos a linhagem Tipo I está freqüentemente associada com infecção congênita enquanto o Tipo 2 é mais comum em pacientes em que a doença foi reativada. Outro fator é que os oocistos produzem infecção mais virulenta que os cistos (Alexander & Hunter, 1998; Dardé, 2004; Silva *et al.*, 2005). Em um estudo com embutidos de suínos, cepas tipo I foram mais prevalentes e o tipo II não foi encontrado em nenhuma amostra (Silva *et al.*, 2005).

Freyre et al. (2006c), não obtiveram relação entre genótipo e proteção cruzada ou sua ausência, considerando várias combinações de cepas para imunizar e desafiar ratas. Apenas conseguiu significativa proteção, utilizando a cepa RH (tipo I) e desafiando com a cepa M7741 (tipo III), ou quando utilizaram cistos de M3 e desafiaram com cistos de Elg (ambos do tipo II). Mas os autores crêem que seja por uma dose muito alta das cepas desafio. Dao *et al.* (2001) em sua pesquisa em camundongos, concluem que dizer que só é possível a re-infecção por *Toxoplasma* nesta espécie, quando a cepa desafio pertence a um genótipo diferente da cepa inicial, não é completamente válido, pois o perfil antigênico também poderia ser quantificado para a diferenciação, e esse tema não foi abordado pelos autores.

Segundo Denkers, Caspar, Sher (1994), a resposta imunológica dos organismos ao *T. gondii* é complexa e faz com que o hospedeiro imunocompetente desenvolva imunidade contra o parasito durante toda a sua vida, tornando-o muito resistente a re-infecção.

4.1.9. Modelos experimentais para o estudo de Toxoplasmose Congênita

A realização de modelos experimentais de toxoplasmose congênita encontra algumas dificuldades como a duração da gestação nos animais, a duração da parasitemia, e o tipo de placenta que permite a transmissão materno-fetal (Darcy *et al.*, 1991; Derouin *et al.*, 1995). Segundo Zenner *et al.* 1993, é difícil, nos ratos e cobaias avaliar a porcentagem de transmissão materno-fetal, por exame histológico e sub-inoculação. Mas esses modelos permitem mostrar que existem diferenças de virulência e de transmissão de acordo com as cepas utilizadas (Derooin *et al.*, 1995).

Várias espécies de laboratório têm sido empregadas para estudar a toxoplasmose congênita. Em geral, os desenhos consistem em imunizar as futuras mães antes da concepção, desafiá-las durante a gestação, e detectar ou não a presença de anticorpos nos recém-nascidos. O propósito de estudar a infecção por *T. gondii* usando modelos experimentais é obter um melhor entendimento da doença em humanos (Innes, 1997). É importante também, contar com mais de um modelo para testar imunógenos, já que tem sido encontrado repetidamente que diferentes espécies animais têm respostas imunes divergentes ao mesmo imunógeno (Gupta & Siber, 1995; Freyre *et al.*, 2008a).

Muitos autores têm testado modelos experimentais em roedores, utilizando cepas como imunizantes e desafios, para testar a imunidade contra toxoplasmose (Dubey *et al.*, 1999; El-Malky *et al.*, 2005; Freyre *et al.*, 2003b; Freyre *et al.*, 2006a).

4.1.9.1. Modelos utilizando Hamsters

Os hamster foram utilizados como modelos experimentais para vários outros tipos de estudo em toxoplasmose. Por exemplo, para estudo de alterações oculares e uso de medicações (Frenkel, 1955; Schwartzman & Pfefferkorn, 1981; Pavesio *et al.* 1995; Pavesio & Lightman, 1996; Gormley *et al.*, 1998; Gormley *et al.*, 1999) e imunidade cruzada entre cepas de toxoplasma (Simitch *et al.*, 1960; De Roever Bonnet, 1963, 1964); Alguns autores testaram patogenicidade de cepas de *Toxoplasma* e, ou os sinais clínicos que ocorriam nesta espécie. Ukhov & Shevkunova (1964), inocularam hamsters com a cepa RH para analisar a patologia através da procura do parasito em vários órgãos. Foi observado grande quantidade de parasitos nas vias respiratórias e trato genital, e morte de animais por pneumonia alvéolo-septal. Guerrero-Bermúdez *et al.* (1994), inocularam hamsters com 3×10^5 oocistos da cepa TCR-2, e procuraram *T. gondii* no trato gastrintestinal. A infecção chegou a 70%. Os parasitos permaneceram no estômago, em média 5,5hs, 23hs no intestino delgado e 7hs no intestino grosso. Trabalhos testando sobrevivência e imunidade também foram realizados (Elwell & Frenkel, 1984a/b). Elwell & Frenkel (1984a), infectaram hamsters com as cepas RH, T-1, T-45 e ts-4. A cepa RH e T-1 causaram 100% e 90% de mortes, respectivamente, enquanto as outras duas cepas não provocaram infecção fatal. Elwell & Frenkel (1984b), imunizaram alguns hamsters com cepa viva de RH, T-45 e ts-4, e os desafiaram com cepa mais patogênica de RH, e outros animais foram imunizados com cepa morta e desafiados com cepa menos patogênica (T-1). Febre e perda de peso foram observadas nos hamsters vacinados com cepa morta e desafiados com a cepa T-1, enquanto isso foi raramente observado em hamsters que receberam toxoplasmas vivos e foram desafiados com RH.

Existem poucos antecedentes de toxoplasmose congênita experimental em hamsters (De Roever-Bonnet, 1960; Frenkel, Freyre & Smith, 1986). No modelo realizado por De Roever-Bonnet, em 1960, houve transmissão congênita de toxoplasmose durante a fase crônica da infecção, porém não foi possível saber exatamente a proporção desta transmissão, porque os resultados foram expressos em

conjunto com a transmissão constatada em camundongos. O modelo hamster de Frenkel, Freyre & Smith (1986), consistiu em proteção limitada do mutante ts4 de *Toxoplasma* contra desafios provocados durante a gestação de hamsters. Houve a redução da taxa de infecção de 32,7% para 11,3%.

4.1.9.2. Modelos utilizando Ratas

O modelo rato tem sido extensivamente usado para o estudo da transmissão congênita e da imunidade contra a toxoplasmose, conforme relacionados a seguir. As linhagens de ratas empregadas aos modelos referidos: Wistar, Long Evans, Fischer e Sprague-Dauley têm mostrado muitas variações individuais em sua resistência natural a toxoplasmose. Neste propósito foram testadas outras espécies, particularmente os camundongos, verificando transmissão à ninhada durante prenhes (Roberts, Alexander, 1992; Roberts, Brewer, Alexander, 1994; Thouvenin *et al.*, 1997; Elsaid *et al.*, 2001; Freyre *et al.*, 2006a) e infecção crônica (Fux *et al.*, 2000; Freyre *et al.*, 2006a).

Dubey & Shen (1991), inocularam 6 ratas Sprague-Dauley (3 via oral: A; 3 via subcutânea: B), aos 7 a 15 dias de prenhes, com 10.000 oocistos da cepa CT-1. Foi realizado o bioensaio dos filhotes e foram positivos, 90,9% (B) e 82,17% (A). Duas ratas (C) com 10-14 dias de prenhes foram inoculadas via subcutânea com 10.000 bradizoítos e 43,8% dos nascidos foram infectados. A infecção congênita ocorreu apenas durante a gestação, pois nenhuma fêmea A, produziu fetos infectados na segunda gestação.

Zenner *et al.* (1993), inocularam ratas com 8 a 12 dias de prenhes e observaram uma incidência de transmissão congênita de 58,2%, 35,2% e 62,8%, pelas cepas RH, 76K e Prugnialud, respectivamente. A transmissão crônica também foi testada re-inoculando essas fêmeas durante nova prenhes, e fetos negativos foram diagnosticados dessas ratas.

Dubey *et al.* (1997a) estudaram a infecção congênita da toxoplasmose durante a infecção aguda, inoculando 4 ratas Sprague-Dawley prenhes com 10.000 oocistos da cepa VEG, com 6, 9, 12 e 15 dias de gestação, foram observados anticorpos em 33, 55, 83 e 55% da ninhada (F1). A transmissão de anticorpos para sua ninhada durante a segunda gestação foi menor que 1%.

De Champs *et al.* (1998) inocularam ratas com Wistar e Fischer 7, 11, 21, 24 e 46 dias de idade, com 10^2 , 10^4 , 5×10^7 e 10^8 taquizoítos de RH via intraperitoneal e

perceberam diferenças estatísticas apenas dependendo da dose inoculada e não da idade dos animais.

A transmissão crônica da toxoplasmose foi estudada por Freyre *et al.* (1999b), inoculando ratas Wistar (89), com 7 cepas de *T. gondii* (KSU, ME-49, T-265, Hopa-Hopa, Elg, Prugniaud e Castells). Após o bioensaio das ninhadas foi detectado 10% de transmissão transplacentária (9 dos 89 ninhadas).

Paulino & Vitor (1999) inocularam ratas prenhes pelas via subcutânea ou intraperitoneal com 10^6 ou 8×10^6 taquizoítos da cepa N (virulenta para camundongo) e por via subcutânea ou oral com 10^2 ou $1,2 \times 10^3$ cistos da cepa P (não virulenta para camundongo). Os filhotes das ratas foram bioensaiados, e não foi observada a infecção por *T. gondii* nos filhotes nascidos, quando as ratas foram inoculadas com a cepa N. Nos animais inoculados com a cepa P, foi observado: 22% de toxoplasmose congênita, para ratas Wistar inoculadas com 10^2 cistos pela via subcutânea; 11,4% para ratas Wistar inoculadas com 10^2 cistos pela via oral; e 21,2% para ratas Wistar inoculadas com $1,2 \times 10^3$ cistos pela via oral; e 2,9% para ratas Holtzman inoculadas com 10^2 cistos pela via oral. A transmissão foi 100%.

Freyre *et al.* (2001a), infectaram grupos de 5-11 ratas com 15 dias de prenhes e 2 grupos com 6 a 8, utilizando 12 diferentes cepas (Elg, M7741, Prugniaud, La Plata, M3, Vastells, Berveley, Hopa Hopa, KSU, de Santiago, ME49, Rodent, S-89) na dose de 2×10^2 até $3,4 \times 10^3$. Os filhotes foram bioensaiados em camundongos e o resultado obtido foi transmissão transplacentária acima de 44%, com uma faixa de 0-90% de transmissão.

Freyre *et al.* (2003b) realizaram infecção com 1 a 6 cepas de oocistos, em 53 ratas com 15 dias de gestação. Os filhotes nascidos foram bioensaiados em camundongos e após um mês foi realizada a aglutinação direta, sendo encontrado 51% de transmissão transplacentária.

A proteção conferida à ratas pelas cepas KSU (10^5 oocistos via subcutânea) e ME-49 (10^3 oocistos via subcutânea), frente ao desafio com a cepa M3 (10^3 oocistos via oral), dois meses após a primeira infecção, foi testada por Freyre *et al.* (2006a). A proteção foi melhor quando as ratas foram inoculadas com a cepa ME-49 (17 de 20), do que com KSU (1 de 10). A diferença estatística foi significativa ($P= 0,02$). Foi feita uma comparação de número de cistos encontrado no cérebro de ratas inoculadas com essas cepas e ME-49 formou mais cistos. Mas os autores concluíram que isso ocorreu provavelmente mais pelas diferenças de perfis antigênicos das cepas, do que pela taxa

de colonização do cérebro, e que devido a ME-49 ser mais imunogênica deve ser escolhida em seus próximos trabalhos.

Freyre *et al.* (2006c) inocularam ratas Sprague-Dawley com taquizoítos da cepa RH ou cistos da Prugniaud ou M3 dois meses antes da concepção. Vinte dias após a cópula as ratas receberam 10^3 cistos da cepa Prugniaud, Elg, M3, M-7741 ou Hopahopa. Grupos controle de fêmeas não imunizadas receberam o mesmo inócuo. Após o nascimento os órgãos (fígado, pulmão e cérebro) eram bioensaiados em camundongos e 30 dias mais tarde realizada a AD dos camundongos. Nos animais imunizados com RH e com as cepas completas (Prugniaud e/ou M3) e desafiados com cistos ocorreram 38,3% e 17% de transmissão, respectivamente, e 56% nos controles. Houve diferença estatística somente na combinação Prugniaud cistos e M3 cistos e na combinação M3 cistos e Elg cistos ($P < 0,05$). Um segundo desenho experimental semelhante a este foi realizado, porém as fêmeas recebiam 10^4 oocistos das mesmas cepas. Houve 33,3% e 48,2% de transmissão quando utilizados RH e cepas completas, respectivamente e desafiadas com oocistos, e 56,2% de transmissão nos controles. Houve diferença estatística nas combinações RH/M7741 oocistos, Prungiaud cistos/Prungiaud oocistos em relação aos seus controles ($P < 0,05$). A imunidade estéril (com a cepa RH) proporcionou, então baixos níveis de proteção com cistos (38,3%) e oocistos (33,3%). Um terceiro experimento foi realizado com ratas Fischer imunizando as fêmeas com Prugniaud e desafiando com 2×10^1 cistos das cepas M-7741, M3 com 12 dias de gestação e houve 100% de proteção. Um 4º. experimento foi realizado com ratas Fischer imunizando-as com Prugniaud e desafiando com 10^3 cistos da cepa 76k aos 12 dias de gestação. Três das quatro fêmeas imunizadas transmitiram *T. gondii* para seus fetos e todas fêmeas controle também.

Freyre *et al.* (2008a), no intuito de padronizar doses de cepas, inoculou ratas durante a gestação, com doses diferentes de três cepas, e não encontraram diferenças estatísticas: quando os animais foram inoculados com 10^3 , 10^4 ou 10^5 bradizoítos da cepa Prugniaud ($P=0,1$), 10^4 ou 10^5 de M3 ($P=1$), e de M7741 ($P=0,5$); e 10^2 ou 10^3 de oocistos de Prugniaud, M3 e M7741 ($P=0,3$; 1; 1; respectivamente). No mesmo trabalho Freyre *et al.* (2008a), não detectaram nas ratas, transmissão lactogênica, mas acreditam ser pelas doses das cepas inoculadas (10^3 oocistos, 10^3 bradizoítos e 10^5 bradizoítos de Prugniaud).

4.1.9.3. Modelos utilizando Camundongos

Há muitas vantagens para o uso do modelo camundongo, porém, em condições naturais, além de haver transmissão vertical durante a infecção crônica, ocorre também nas sucessivas gerações de filhotes, o que indica que o uso deste animal, não é o melhor modelo para a toxoplasmose humana (Remington, Jacobs, Melton, 1961; Berveley, 1959 apud Innes, 1997). Também, sabe-se que os camundongos são muito sensíveis à infecção por *T. gondii*, sendo que seu uso para entender melhor a toxoplasmose congênita, pode, por esse motivo, não ser o ideal (Freyre *et al.*, 2006a). Em vários trabalhos os autores observaram apenas proteção parcial (Elsaid *et al.*, 1999; Dao *et al.*, 2001; Hiramoto *et al.*, 2002; Mishima *et al.*, 2001; Parmley *et al.* 2002).

Fux *et al.* (2000), inocularam, via oral, 23 Balb/c prenhes, com cistos da cepa P. A transmissão congênita foi observada em 20 (60,6%) dos filhotes do grupo 1 (inoculados entre 6-8 dias de prenhez e tratados com 100mg/kg/dia de minocycline), em 3,6% dos filhotes do grupo 2 (inoculados entre 10-15 dias de prenhez e também tratados) e 54,2% dos filhotes do grupo 3 (inoculados entre 10-15 dias de prenhez e sem tratamento).

Freyre *et al.* (2006b), testaram transmissão congênita na etapa crônica da transmissão congênita utilizando camundongos Balb/c. Fêmeas foram inoculadas com 10^4 braizoítos da cepa Prugniaud, e colocaram para acasalar com os machos 45 dias mais tarde. O bioensaio dos filhotes era realizado imediatamente após o parto. Foi obtida transmissão congênita em 2 de 10 fêmeas. Também testaram modelos durante a etapa aguda da infecção congênita. Num primeiro modelo as fêmeas eram colocadas com os machos, e após detecção de prenhez eram inoculadas com 10^3 braizoítos da cepa Prugniaud ou, 10^2 ou 10^3 braizoítos das cepas M7741 ou M3. Os nascidos eram bioensaiados. As fêmeas inoculadas com Prugniaud adotaram filhotes de fêmeas não inoculadas, e nestes foi realizado bioensaio 3 dias após esse procedimento. Os resultados obtidos foram: das 10 fêmeas inoculadas com 10^3 de Prugniaud, 5 transmitiram a infecção congênita aos fetos, mas não foi detectada transmissão lactogênica. Quatro de 10 fêmeas e 6 de 10, inoculadas com 10^2 e 10^3 braizoítos da cepa M3, respectivamente, e 4 de 10 e 3 de 8 fêmeas inoculadas com 10^2 e 10^3 braizoítos da cepa M7741, respectivamente transmitiram a infecção de seus fetos. Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais. Três das 10 fêmeas adotaram filhotes, e nenhuma das ninhadas foi positiva após a amamentação. Num segundo

modelo da transmissão aguda, foi tudo feito similar ao anterior mas as fêmeas detectadas prenhes eram inoculadas com 10^2 ou 10^3 oocistos da cepa Prugniaud ou, 10^2 oocistos da cepa M7741. Houve transmissão para os fetos em 7 de 15, 5 de 10 e 4 de 9 fêmeas inoculadas com 10^2 e 10^3 oocistos da cepa Prugniaud, e 10^2 oocistos da cepa M7741, respectivamente. Foi realizado também, um experimento para verificar a proteção conferida por uma infecção com toxoplasma antes da concepção, paralelamente a um experimento controle com fêmeas não inoculadas antes da gestação e apenas desafiadas durante prenhez. As fêmeas eram inoculadas com 10^4 bradizoítos da cepa Prugniaud e 30 dias mais tarde testadas para anticorpos por AD. Após 45 dias eram colocadas com machos e quando detectada a prenhes eram inoculadas com 10^3 ou 10^4 bradizoítos da cepa Prugniaud. Esse desenho foi repetido imunizando as fêmeas com 20 cistos da cepa ME-49 e 10^3 bradizoítos da cepa M3. Todos os camundongos inoculados com Prugniaud ou ME-49 foram positivos na AD. Dos 9 BALB/c imunizados 45 dias antes da concepção e desafiados durante a gestação com a mesma cepa, 7 transmitiram a infecção para sua prole. Quando os camundongos foram inoculados com a cepa ME-49 e desafiados durante a gestação com a cepa M3 apenas 1 de 10 fêmeas transmitiu a infecção para seus fetos congenitamente. Há significância estatística da proteção homóloga e heteróloga entre camundongos imunizados e não imunizados (controle) neste experimento ($P=0.0407$ e 0.029 , respectivamente).

Freyre *et al.* (2008b) imunizaram 10 ratas com 10^5 oocistos da ME-49 e desafiaram-nas com 10^4 oocistos da M7741 após 30 dias e após mais 30 dias foram eutanasiadas e seus órgãos bioensaiados em camundongos. O resultado foi uma total proteção ($P=0,001$), ou seja nenhum camundongo foi positivo quando inoculado com cérebro ou músculo, sendo que isso foi confirmado pela sobrevivência de total dos camundongos que receberam esses órgãos, além do fato de que os controles foram 50% positivos.

Haumont *et al.* (2000), testaram o efeito da vacinação de cobaia com proteína recombinante de SAG1, e observaram ausência do parasito em 66-86% dos fetos que foram desafiados com a cepa virulenta C56. Os animais não imunizados (controle) apresentaram mais de 80% de positividade. Flori *et al.* (2002), utilizaram os Porquinhos-da-índia num modelo para testar o diagnóstico da transmissão materno fetal por dois métodos de PCR. Um total de 56 fêmeas foram inoculadas, perto de 90 ou 30 dias antes da prenhez, com as cepas RH ou PRU, via intraperitoneal ou com a cepa 76K via oral e mais ou menos aos 40 ou 20 dias de prenhes. O cérebro e fígado dos recém-

nascidos foram utilizados para a realização das técnicas: “nested” PCR e PCR em tempo real. Nas 3 cepas o “nested” PCR foi melhor para a determinação da transmissão materno fetal (54%, 84% e 86% para RH, PRU e 76K, respectivamente) que o PCR em tempo real (31%, 66% e 76% para RH, PRU e 76K, respectivamente).

Quanto a esta questão de sensibilidade, os modelos rata e ovino são mais relevantes para testar a toxoplasmose congênita humana, pois estas espécies possuem uma resistência natural à doença similar ao que ocorre com os humanos (Innes, 1997; Freyre *et al.*, 2006a). Para Freyre *et al.* (2008a), comparando seu trabalho em ratas com o feito anteriormente em camundongos (Freyre *et al.*, 2006c), vêem vantagens no modelo rata: mais fácil e rápido de obter um grupo de fêmeas prontas para emprenhar; alguns camundongos inoculados durante prenhez com oocistos de cepa patogênica, morrem antes do parto. Mas os inconvenientes do modelo rata são: requer mais espaço; maior custo, maior dificuldade em manipular os animais.

Suínos, também têm sido utilizados como modelos experimentais para testar persistência, imunidade e vacinas (Pinckey *et al.*, 1994; Dubey *et al.*, 1994; Freire *et al.*, 2003; Garcia *et al.*, 2005; Jorget *et al.*, 2008).

O modelo Macaco Rhesus foi inicialmente usado por Wong *et al.* (1979) para verificar a transmissão congênita quando as fêmeas foram infectadas antes da prenhez por cepas de *Toxoplasma gondii*. Houve morte de filhotes, mas estes se apresentaram negativos para toxoplasmose e também nenhuma placenta apresentou parasitos. Schoondermark-van *et al.* (1993), na Nova Zelândia, com resultados de 40-60% de transmissão fetal, sendo similar aos resultados encontrados em humanos. E posteriormente utilizado por Schoondermark-van *et al.*, 1994a/b e 1995 para estudo da prevenção pelo uso da espiramicina e em 1997 para diagnóstico e tratamento de toxoplasmose congênita. Em macacos *Aotus lemurinus*, Escajadillo & Frenkel (1991), estudaram a sobrevivência deles após inoculação, medicação e desafio, e obtiveram 10% de sobreviventes por mais de 1 ano. Quando fêmeas foram vacinadas durante prenhes não houve patogenicidade, e não houve transmissão para filhotes quando foram vacinadas fêmeas lactantes.

4.1.10. Diagnóstico:

A pesquisa direta do *T. gondii* pode ser feita a partir de diversos componentes orgânicos, como, fezes, sangue, líquido cefaloraquidiano, saliva, leite, escarro, medula

óssea, cortes de placenta, além de conteúdos de infiltrados cutâneos, do baço, fígado, músculos e linfonodos (Neves, 2003; Moreno *et al.*, 2007). O material obtido pode ser utilizado para fazer diagnóstico indireto por inoculação em camundongo ou histopatológico (Neves, 2003).

A pesquisa de oocistos pode ser realizada nas fezes de felídeos por método de centrifugoflutuação no período de eliminação ativa do ciclo enteroepitelial, que dura uma a duas semanas. Mas, como a maioria dos gatos são assintomáticos, durante este estágio, normalmente o exame fecal não é solicitado dificultando o diagnóstico (Swango, Bankemper & Kong, 1992).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é realizado, principalmente, pela identificação e quantificação de anticorpos específicos através de sorologia (Camargo, 1996; Costa *et al.*, 2007). Os testes sorológicos são muito utilizados devido à facilidade de obtenção de amostras de sangue, ao baixo custo, à rapidez de execução de vários destes testes e aos resultados, em geral, altamente específicos (Matukuma, Richtzenhaim, 1997).

Diversas técnicas sorológicas, são utilizadas como: hemaglutinação indireta (HAI), aglutinação direta (AD), aglutinação por imunoabsorção (ISAGA), imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), método imunoenzimático com detecção fluorescente (ELFA), ensaio imunoenzimático em micropartículas (MEIA) (Delibas, Ertabaklar & Ertug, 2006; Costa *et al.*, 2007), “immunoblotting” (Jiang *et al.*, 2005), e por diagnóstico molecular (PCR) (Flori *et al.*, 2002; Kompalic-Cristo, Britto & Fernandes, 2005).

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose deve ser corretamente interpretado para diferenciar infecção de doença. Se a intenção é avaliar a imunidade do paciente, os testes sorológicos que detectam anticorpos da classe IgG são suficientes (Camargo, 1996). Mas para o diagnóstico da doença é preciso associar sintomas clínicos com a presença de variação de títulos de IgG (elevação ou redução), num período de duas a três semanas, ou a presença de anticorpos IgM (Neves, 2003). Estima-se que um terço ou mais da população humana possui anticorpos para *T. gondii* (Montoya & Liesenfeld, 2004). No recém-nascido, anticorpos da classe IgG, podem ser anticorpos maternos, que na criança não infectada podem permanecer na circulação ao longo do primeiro ano de vida. É necessário realizar a IgM ou IgA, pois não atravessam a placenta e então, quando presentes indicam a produção pelo próprio feto, devido a infecção intra-uterina (Costa *et al.*, 2007)

Segundo Hassan *et al.* (1999), em estudo realizado em ratos, inocularam os animais com *T. gondii* e observaram que: IgA e IgM eram detectados com 15 dias de infecção mas declinavam depois. A resposta dos anticorpos IgA mais proeminente quando da ingestão de oocistos e IgM quando da infecção intra-peritoneal por taquizoítos. Já a IgG começou a aparecer 60 dias pós-infecção e foi aumentando até o fim do experimento (120 dias).

A reação de AD para toxoplasmose tem demonstrado alta sensibilidade e especificidade em ratas, camundongos, ovinos e outros animais com infecção natural e experimental a *Toxoplasma* (Freyre & Fálcon, 1989).

4.1.11. Profilaxia:

As mulheres grávidas soronegativas para *T. gondii* não devem manter contato direto com fezes de gatos, solo ou ingerir carne mal passada. Devem beber água tratada, e fazer sorologia antes da gravidez, e pelo menos trimestralmente durante a gestação. (Andrade *et al.*, 2004). Os imunodeprimidos com sorologia negativa também devem fazer exames periódicos diagnosticando a infecção logo no início (Pizzi, 1997).

Se a mulher possui anticorpos antes de ficar grávida ela é imune e o feto está protegido da infecção, não sendo, necessários métodos preventivos tão rigorosos (Frenkel, 1982; Camargo, 1996).

Uma das formas de reduzir a infecção humana pelo *T. gondii* é destruir os cistos da carne cozinhando-a até uma temperatura de 67°C (Dubey *et al.* 1990), ou de acordo com Amato Neto & Marchi (1999), 60°C por 20', com garantia de que o calor penetre igualmente no alimento. Navarro *et al.* (1992), observaram que a utilização do sal, na preparação de lingüiça suína, mostrou-se eficaz em 48 horas. Dubey (1997b), demonstraram que a 4°C numa solução de NaCl a 0,85% os cistos sobrevivem 56 dias e aumentando a temperatura para 20°C e a concentração de NaCl para 3,3%, a sobrevivência diminui para três dias, e não sobrevivem em nenhuma temperatura testada na com 6% de NaCl. Segundo Remington & Desmonts (1990), o congelamento por 18 a 24hs, pode ser considerado um meio de destruição dos cistos. Devemos lavar bem as mãos e utensílios após mexermos em carne crua para não ingerir formas infectantes, assim como lavá-las após contato com fezes de gato, ou após mexer na terra que podem

estar contaminadas com oocistos. Nunca devemos beber leite não pasteurizado (Foulon, Naessens, Ho-Yen, 2000). Também é necessário cobrir o tanque de areia das crianças, quando não estiver em uso. A caixa dos felinos deve ser limpa diariamente para evitar contato com oocistos esporulados e o destino adequado a essas fezes é a incineração. Devemos alimentar os gatos com ração e combater ratos e camundongos, além de fazer o controle da população felina (Neves, 2003).

Não existem atualmente vacinas aplicáveis à humanos para prevenir a toxoplasmose congênita ou aguda mortal em imunocomprometidos (Remington, Desmontes, 1990; Luft, Hafter, 1990; Nielsen *et al.*, 2000), nem há evidências de que as estratégias de vacinação irão prevenir completamente a formação de cistos em humanos e animais (Freyre *et al.*, 2006a).

Várias vacinas vivas, naturais ou atenuadas foram testadas, em roedores e principalmente em gatos, já que são considerados por muitos autores a chave do controle (Frenkel & Smith, 1982; Omata *et al.*, 1996; Mishima *et al.*, 2004). Os gatos, pela importância como disseminadores dos oocistos e na esperança de conseguir parar ou diminuir a contaminação ambiental, também têm sido estudados. Dubey & Frenkel (1974), inocularam 3 gatos adultos com cistos das cepas Aldrin ou Gail e estes excretaram oocistos, e re-excretaram após o desafio com M7741 3 a 6 semanas mais tarde. E um gato que foi inoculado com M7741 e posteriormente desafiado com Aldrin, foi negativo. Frenkel & Smith (1982), relataram que 11 de 13 gatos imunizados duas vezes com a mesma cepa e desafiados com a cepa Gail, foram negativos para eliminação de oocistos. Frenkel *et al.* (1991), conseguiu um bom nível de proteção (84%) contra a emissão de oocistos toxoplásmicos pelos gatos, utilizando a cepa T-263. Freyre, Chomaranski & Fishblack (1993) induziram imunidade em gatos, também na emissão de oocistos, após administração oral de cistos e bradizoítos T-263 e posterior desafio com cistos de T256. Dubey (1995), imunizaram três gatos inoculando com ts-2 e desafiando com cistos de ME49. Freyre *et al.* (2007) inocularam 9 gatos inoculados com a cepa ME49 e quando eliminavam oocistos nas fezes foram desafiados com três diferentes cepas. Na primeira inoculação todos os gatos eliminaram oocistos nas fezes, e após o desafio oito de nove gatos foram imunizados. Garcia *et al.* (2007), testou uma vacina e conseguiu 67% de proteção e 90% menos eliminação de oocistos em gatos.

Matheus-Pinilla *et al.* (1999) utilizando a T-263 em gatos, conseguiram observar a diminuição de gatos positivos para anticorpos anti-*T. gondii* e diminuição de suínos positivos para cistos em 8 granjas.

Existe uma vacina comercial para ovinos, atenuada, (Toxovax®), que reduz o aborto, e causa imunidade parcial na formação de cistos. É produzida com taquizoítos da cepa acistogênica S48 (Buxton *et al.*, 1991). Essa vacina foi testada para caprinos por Chartier & Mallereau (2001), que observaram baixos títulos de anticorpos pós-vacinação e desafio. Os animais não vacinados apresentaram altos títulos de anticorpos após desafio com oocistos. O percentual de abortos e natimortos foi de 0 e 25 nos vacinados, e 25 e 12,5 nos não vacinados.

Imunidade parcial na formação de cistos, também foi alcançada com cepa não persistente em suínos (Dubey *et al.*, 1991; Pinckney *et al.*, 94). Freyre *et al.* (2008b) obtiveram proteção total contra a formação de cistos no cérebro e músculos de ratas imunizadas com oocistos da ME-49 e desafiadas com oocistos da M7741.

Tem sido testado também outros tipos de vacinas: como as de subunidades de proteínas, as recombinantes e as de RNA e DNA (Nielsen *et al.*, 1999; Zenner *et al.*, 1999; Jenkins, 2001; Couper *et al.*, 2003; Ismael *et al.*, 2003; Letscher-Bru *et al.*, 2003; Mishima *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2004; Taweenan, 2004; Garcia *et al.*, 2005; Diemier-Poisson *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2007; Igarash *et al.*, 2008a/b; Jorget *et al.*, 2008).

5. Materiais e Métodos

5.1. Animais

Foram utilizados hamsters (*Mesocricetus auratus*) adultos (8 semanas) procedentes de criador de Santo Antônio da Patrulha (figura 1) e camundongos CF-1 criados em laboratório (LACEN-RS), esses últimos para os bioensaios.

No Uruguai, foram utilizados camundongos da cepa CF-1, de 20gr de peso corporal, para obter cistos e bradizoítos de *T. gondii*, e gatos de raça européia, de 45 dias de idade, para a obtenção de oocistos.

Somente foram utilizados animais, inicialmente livres de infecção toxoplásmica, verificada pela reação de aglutinação direta (AD) de Desmonts & Remington (1980), com o uso de 2-ME (Frenkel, Freyre & Smith, 1986), ou pela hemaglutinação indireta (HAI), segundo técnica de Averbach & Yanovsky. Foi interpretado como reativo, animais cujo soro foi positivo na diluição 1:64 ou maior. Para proceder a colheita de sangue, os animais foram anestesiados com xilazina e quetamina intra-peritoneal (xilazina 10mg/Kg + 200mg/Kg de quetamina, misturadas em uma seringa), segundo recomendação de Paiva, Maffili & Santos (2005), e foi utilizada a via retor-orbital.

Os camundongos e hamsters foram eutanasiados de acordo com a resolução número 714 de 20 de Junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (Rivera, Amaral & Nascimento, 2006). Foi utilizado tranqüilizante e anestésico geral, pentobarbital, via intraperitoneal, na dose 80-150mg/Kg para hamsters e 180mg/kg para camundongos (3 vezes a dose anestésica) (Paiva, Maffili & Santos, 2005; Rhoden et al, 2006b).

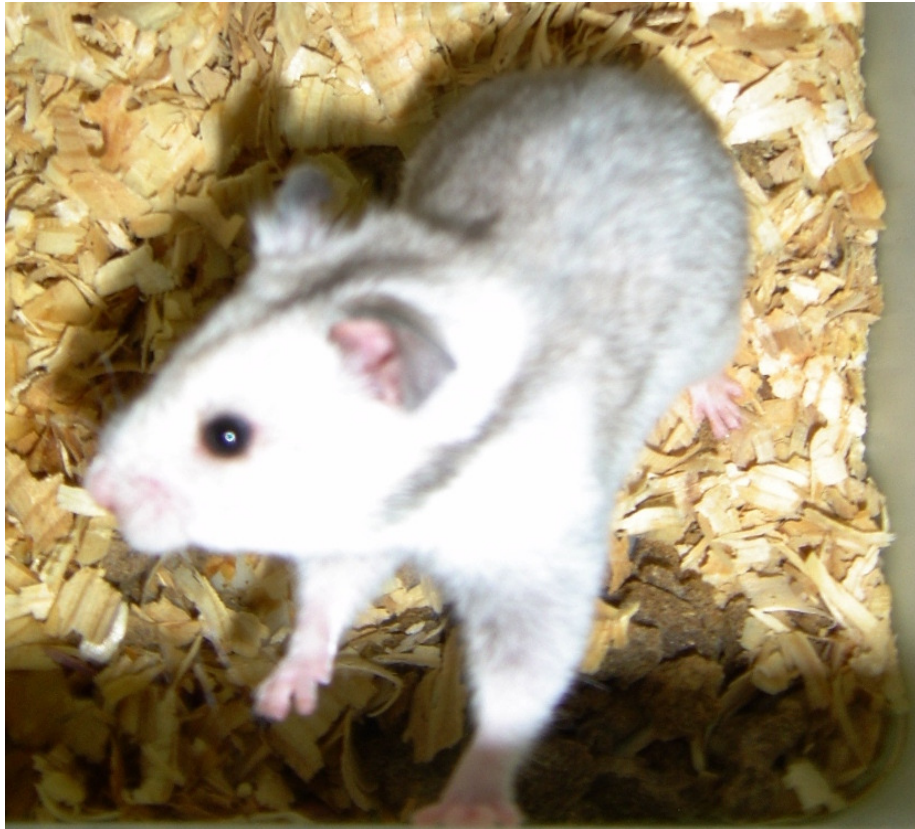


Figura 1: Fêmea hamster adulta
Fonte: FIALHO, C.G.

5.1.1. Particularidades sobre a espécie

O peso do hamster recém-nascido é de 2-3g, e quando adultos os machos chegam a 85-140g e as fêmeas, entre 95-120g. As fêmeas atingem a maturidade sexual com 6-8 semanas e seu ciclo estral ocorre a cada 15-18 dias. A gestação dura, também, 15-18 dias, e resulta num número de 4-12 crias, isso em fêmeas de até 14 meses, quando se encerra a vida sexual útil. Os machos atingem a puberdade com 6 semanas (Paiva, Maffili & Santos, 2005).

5.1.2. Manejo laboratorial

A manutenção de condições ambientais estáveis é muito importante para assegurar que resultados obtidos na experimentação com animais possam ser realizados novamente com sucesso, pois, no caso de necessidade de reproduzir um experimento, os animais serão diferentes, e mesmo seguindo parâmetros experimentais perfeitamente iguais, se o ambiente for diferente pode ser possível que não se consiga os resultados

esperados. Uma primeira atenção a ser dada é o espaço físico destinado aos animais. Deve-se evitar ruídos inesperados e conversas altas no biotério. A temperatura ideal para essa espécie é de 20-24°C e uma umidade relativa do ar de 55% (+/-10) (Paiva, Maffili & Santos, 2005).

A contenção do animal deve ser feita erguendo-os pela pele frouxa do pescoço. Substâncias podem ser administradas aos roedores via oral, subcutânea, intramuscular, endovenosa, ou intraperitoneal. Para a administração via oral pode-se utilizar a gavagem (ou sonda intragástrica), que permite a administração direta no esôfago ou estômago com tubo flexível (polietileno) ou rígido (material inoxidável de ponta arredondada), sendo administrado no máximo 1-3 mL para cada 100g de peso. A via intraperitoneal é a mais utilizada, com auxílio de uma agulha 25 X 7 e uma seringa de aplicação intradérmica. Durante a administração dos líquidos procura-se manter um ângulo de 90° entre a agulha e o corpo do animal e se introduz apenas 2/3 da agulha (Paiva, Maffili & Santos, 2005; Rhoden et al., 2006a).

Outro fator importante para a manutenção desses animais são as informações sobre o consumo de alimentos. O consumo médio diário de água é de 80-100 mL para cada 100g de peso vivo e o de ração de 10-12g/100g. Para uma boa avaliação clínica dos animais, é ainda importante ter alguns dados fisiológicos destes animais: batimentos cardíacos 280-412/min e movimentos respiratórios 33-127/min (Paiva, Maffili & Santos, 2005).

5.2. Cepas de *Toxoplasma gondii*

Cepas usadas para imunização: cepa RH de *T. gondii* (cepa incompleta). A cepa foi mantida em camundongos por passagens a cada 3 dias, sendo realizada a eutanásia do roedor (como explicado anteriormente no item 5.1) e a colheita via intraperitoneal (figura 2), tendo sempre o cuidado de observar a viabilidade dos taquizoítos no microscópio (figura 3) antes de inocular novo camundongo ou utilizar a cepa para inoculação em hamster. Segundo Dubey (1998b), a cepa RH foi isolada em 1939 por Sabin, e desde então, vem sendo passada em camundongos ou em cultura de células, gerando mudanças biológicas. A cepa RH é denominada incompleta pois, não produz oocistos em gatos. Também, cistos de algumas linhagens não são infectantes para camundongos, algumas linhagens não formam cistos e outras linhagens sofreram alterações genéticas.

Foi empregada, também a cepa ME-49 por via oral, que é uma cepa completa, característica importante na imunização por conter maior variabilidade de antígenos. Embora outras cepas também tenham essa característica, escolheu-se ME-49 pela facilidade de acesso a mesma.

Cepas usadas para os desafios: cepas Prugniaud, M3 e M7741. A via de inoculação foi oral (gavage), por simular a infecção natural (figura 4). Estas cepas foram utilizadas, por já terem sido ensaiadas para a transmissão congênita em ratas em outros estudos (Zenner *et al.*, 1993; Freyre *et al.*, 2001a/b; Freyre *et al.*, 2003; Freyre *et al.* 2008a).

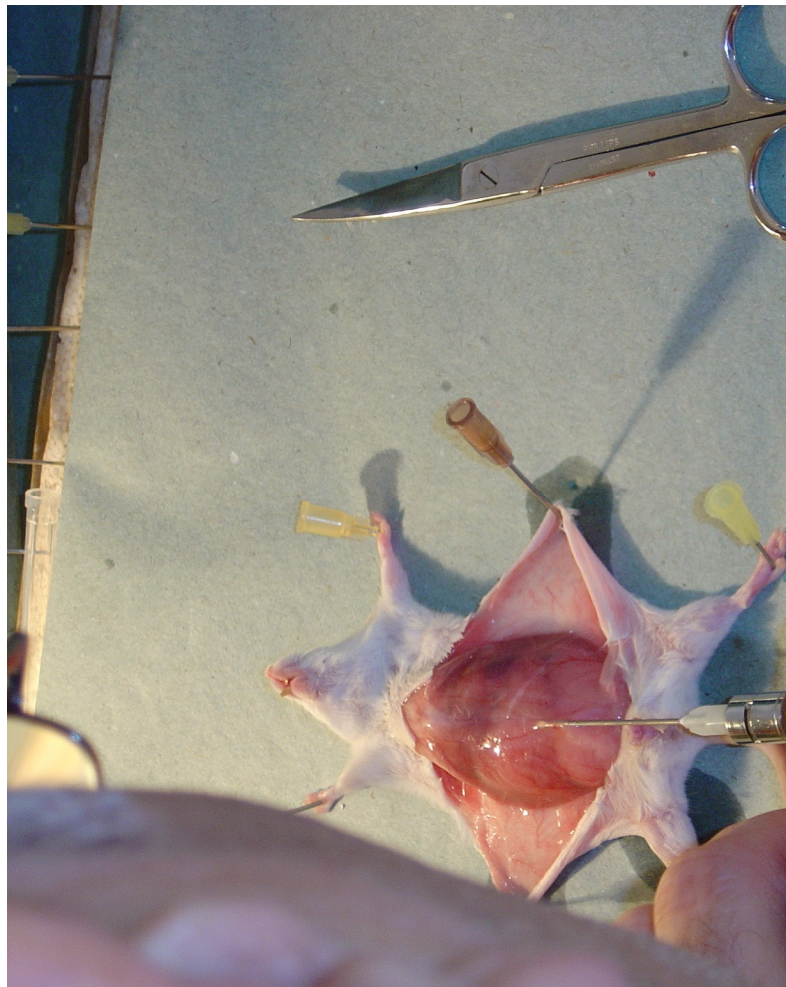


Figura 2: Coleta de taquizoítos da cepa RH de *Toxoplasma gondii*, mantidos em camundongos por inoculações seriadas
Fonte: FIALHO, C.F. & SILVA, F.R.C.

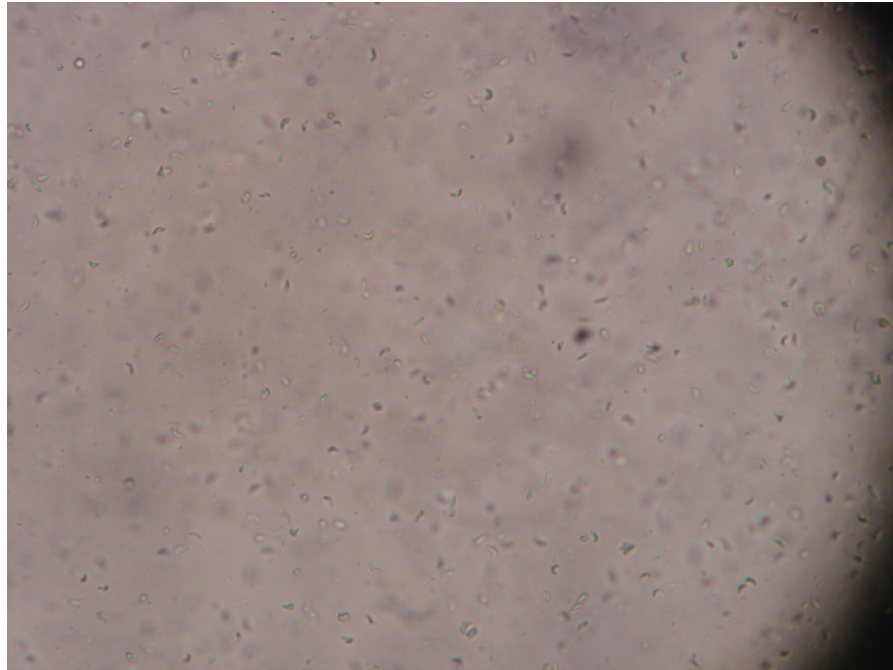


Figura 3: Taquizoítos da cepa RH de *Toxoplasma gondii*, em líquido peritoneal, em aumento de 20X
Fonte: FIALHO, C.F.

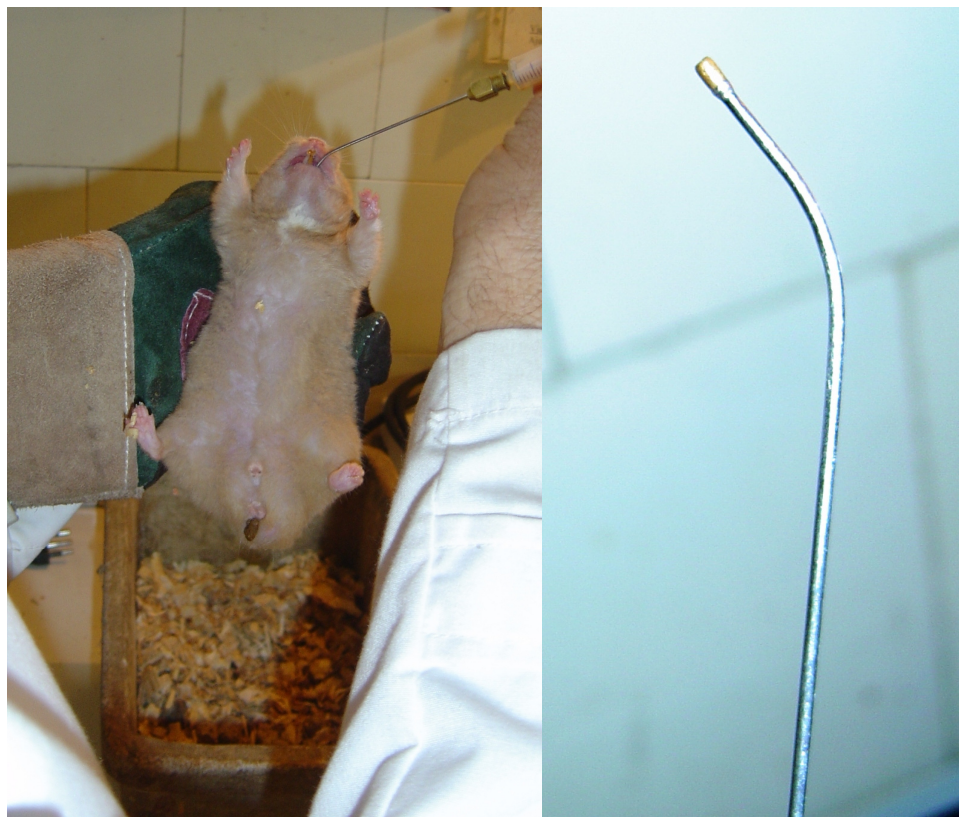


Figura 4: Administração de medicação via oral por gavagem, para hamster (esquerda) e em aumento maior da cânula utilizada (direita)
Fonte: FIALHO, C.F. & SILVA, F.R.C.

5.3. Métodos para fecundar e detectar a gestação em fêmeas de hamsters

Inicialmente a fecundação das fêmeas (figura 5) foi feita alojando-as junto com machos na razão de um macho para cada 4 fêmeas. Mas ocorreram brigas, lesões e mortes. Por isso optou-se por alojar casais em gaiolas menores. A detecção da gestação foi feita pelo aumento do peso corporal, aferido a partir do sétimo dia após o alojamento com macho. As fêmeas que apresentaram um aumento de peso corporal de 5-8 gramas ou mais foram consideradas em gestação (figura 6) (Tarabla 2000).



Figura 5: Instante do acasalamento entre hamsters
Fonte: BIGATTI, L.E. & FIALHO, C.G.



Figura 6: Pesagem de fêmea hamster antes de ser alocada com o macho para reproduzir.

Fonte: FIALHO, C.F. & SILVA, F.R.C.

5.4. Método para a detecção da infecção transplacentária (Bioensaios)

Uma vez nascidas as ninhadas (figuras 7 e 8), foram sub-inoculadas de imediato em camundongos da seguinte forma: os recém-nascidos foram eutanasiados com pentobarbital sódico, na dose 80-150mg/Kg intraperitoneal, segundo Paiva, Maffili & Santos (2005) e retirados seus fígado e pulmões (figura 9). Estes órgãos foram retirados homogenizados com solução NaCl 9% pelo processo de maceração em um cadinho e posteriormente por passagens em seringa de vidro (várias aspirações), primeiro sem agulha e depois com agulhas de calibres que iam decrescendo (figuras10). O homogeneizado de cada ninhada foi sub-inoculadas intra-peritonealmente em quatro camundongos soronegativos para o protozoário. Quando as ninhadas tinham oito ou mais recém nascidos, foi utilizado os órgãos de metade dos nascidos, mas quando eram menos de oito crias foi utilizado os órgãos de todos. Ao fim de 25 dias, foram buscados anticorpos anti-toxoplásmicos mediante a reação de AD no soro dos camundongos inoculados. A coleta de sangue foi realizada via retro-orbital, após anestesia com xilazina e quetamina (xilazina 10-15mg/Kg e quetamina 100-150mg/Kg) misturadas na mesma seringa, via intraperitoneal, de acordo com Paiva, Maffili & Santos (2005). Os fetos foram considerados protegidos, quando as sub-inoculações de tecidos de recém nascidos resultaram negativas para anticorpos anti-*Toxoplasma*.



Figura 7: Fêmeas hamsters com seus recém-nascidos
Fonte: FIALHO, C.F.



Figura 8: Filhotes de hamster recém-nascidos
Fonte: FIALHO, C.F.

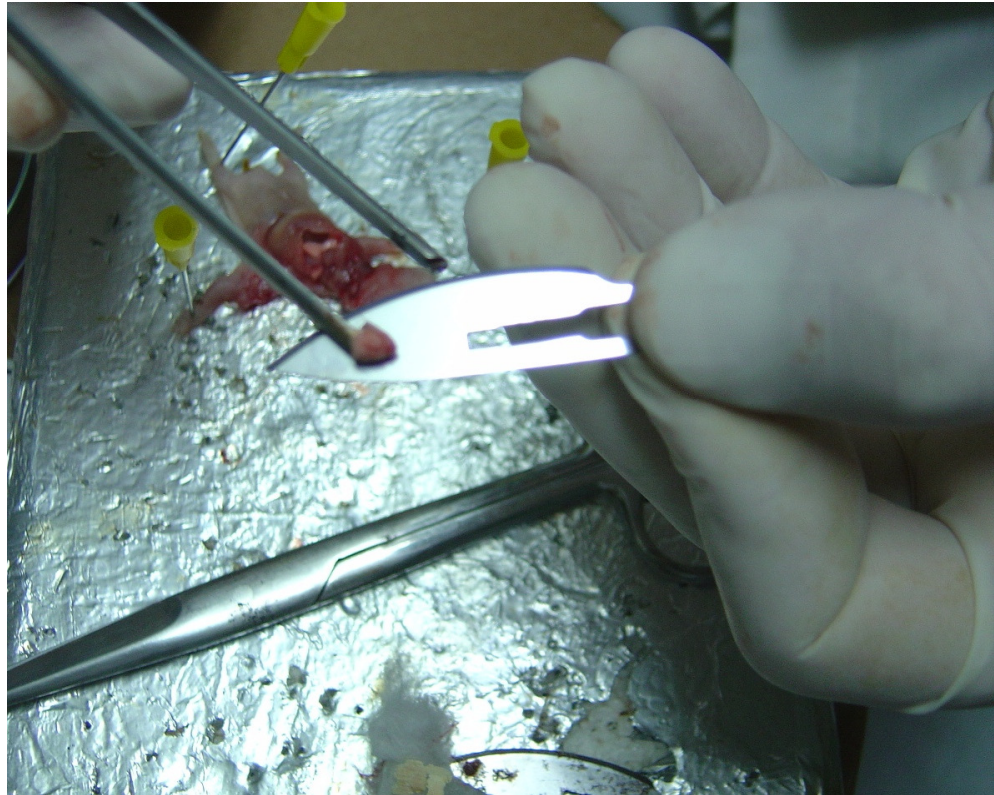


Figura 9: Retirada dos pulmões e fígado de filhotes de hamsters recém-nascidos para o bioensaio em camundongos.
Fonte: FIALHO, C.F. & SILVA, F.R.C.

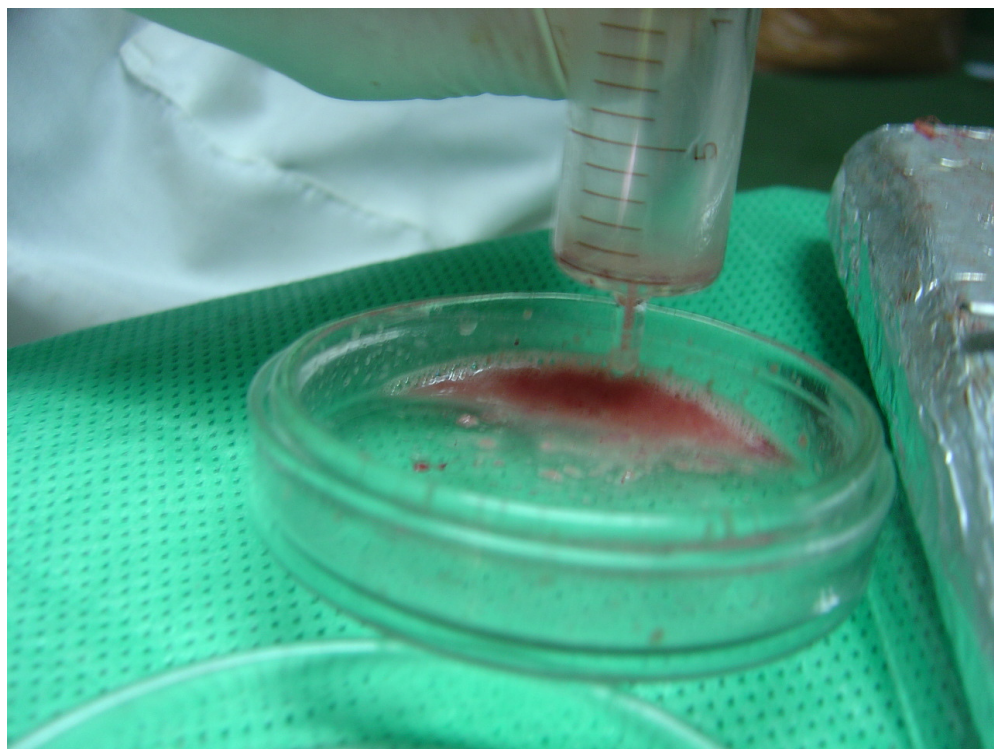


Figura 10: Homogeneização dos órgãos de filhotes de hamsters, para o bioensaio em camundongos.
Fonte: FIALHO, C.F. & SILVA, F.R.C.

5.5. Obtenção de oocistos de *Toxoplasma*

Para a obtenção de oocistos do parasito, gatinhos recentemente desmamados, negativos na AD para toxoplasmose na diluição 1:64, receberam cérebro de rato com infecção toxoplásmica crônica. Foi realizada a coleta das fezes dos dias 4 a 7 pós-infecção, e estas foram concentradas pelo método de Sheather Modificado, e incubadas com agitação em 2% de ácido sulfúrico durante 96 horas até estar completa a esporulação. Os oocistos obtidos foram neutralizados com NaOH 3.3% e quantificados em número de oocistos/mL para a inoculação oral em hamsters, nos 4 experimentos. Essa etapa foi realizada na Faculdade de Veterinária de Montevideo. No Laboratório de Protozoologia, da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, era procedida a diluição destes oocistos, que vinham concentrados e contados (em oocistos/mL) para a inoculação das fêmeas (figura 11).

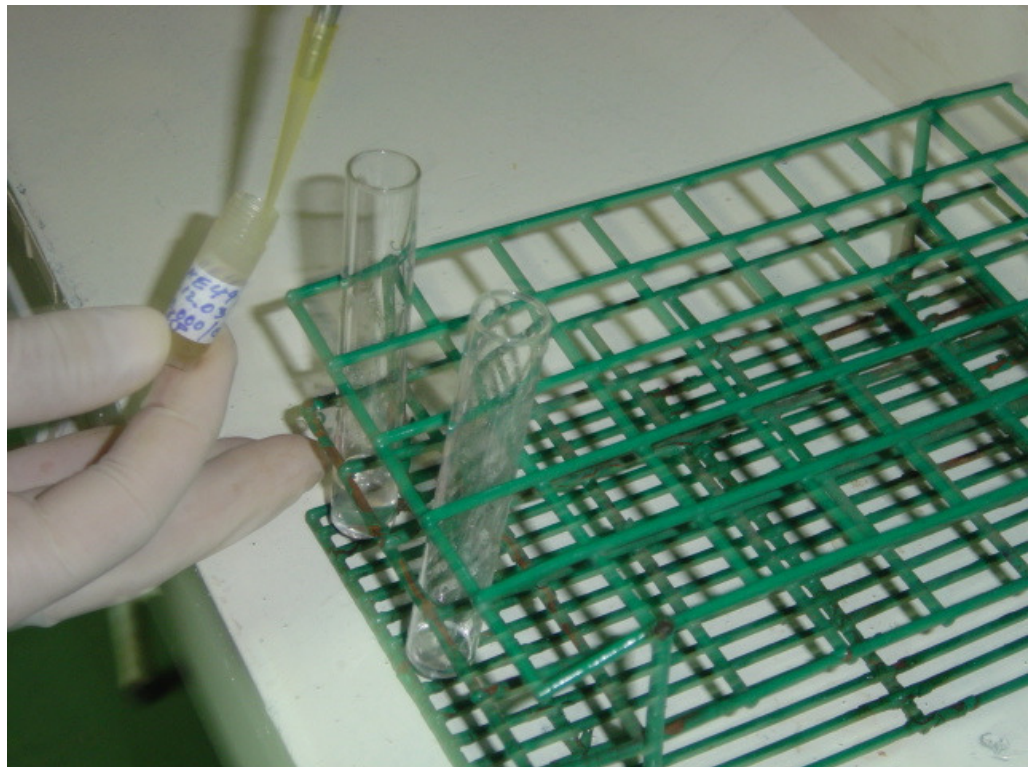


Figura 11: Procedimento de diluição de oocistos de *Toxoplasma gondii*, no Laboratório de Protozoologia da FAVET-UFRGS.

Fonte: BIGATTI, L.E. & FIALHO, C.G.

5.6. Determinação do índice de proteção vacinal

O índice de proteção vacinal foi calculado de acordo com o protocolo utilizado pelo Prof. L. Lavarello, Departamento de Estatística da Faculdade de Veterinária de Montevideo (comunicação pessoal Freyre, 1995):

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{b' \cdot a} \right)$$

Onde:

a': quantidade de ninhadas infectadas nascidas de mães imunizadas

b: quantidade total de ninhadas nascidas de mães não imunizadas, inoculadas durante sua gestação (controle)

b': quantidade de ninhadas infectadas nascidas de mães não infectadas (controle)

a: quantidade total de ninhadas nascidas de mães imunizadas, inoculadas durante a gestação

5.7. Tratamento estatístico dos resultados

Foi utilizado o Teste Exato de Fisher para testar a hipótese de nulidade para associação entre imunização e desafio, com os resultados do Experimento No.4.

5.8. Medidas para a proteção biológica das pessoas envolvidas no projeto de trabalho.

Foram aplicadas rigorosamente as diretrizes da Organização Mundial da Saúde para salvaguardar as pessoas envolvidas no presente projeto de trabalho, contra o risco de infecção toxoplásmica (Organización Mundial de la Salud. Informe de um comitê de expertos de la OMS. Serie de Informes Técnicos 1994).

5.9. Experimentos:

5.9.1. Experimento No. 1: Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose.

Este experimento foi desenhado para verificar a hipótese A, ao ensaiar a transmissão congênita da toxoplasmose durante sua etapa crônica em hamsters gestantes.

Dez hamsters fêmeas receberam 40 oocistos esporulados da cepa ME-49 de *Toxoplasma gondii* por via oral (gavage com uso de cânula). Após 60 dias da infecção foram acasaladas com machos e as crias que nasceram, foram eutanasiadas para a realização do bioensaio. Vinte e cinco dias mais tarde estes camundongos foram anestesiados e foi realizada a colheita de sangue, via retro-orbital conforme Vasques, Machado e Rhoden (2006) (figura 12), para a reação de aglutinação direta (AD) para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*. A soroconversão dos camundongos foi considerada como a indicação da transmissão *T. gondii* congenitamente, em infecções crônicas. As fêmeas foram alocadas novamente com machos e realizada a pesquisa de anticorpos na ninhada subsequentes.

Índice de avaliação: O sucesso deste experimento foi dado pela taxa de transmissão congênita de *T. gondii* menor de 20% durante a primeira gestação, e ausência de transmissão na gestação subsequente.

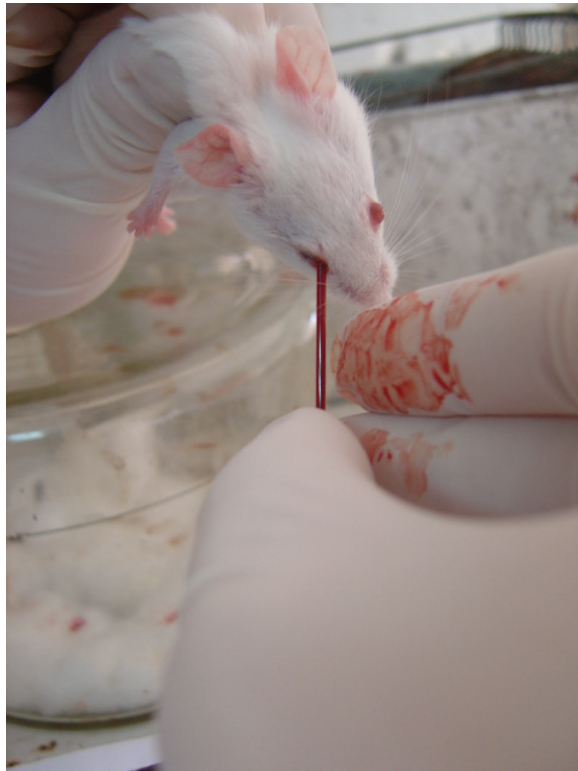


Figura 12: Colheita de sangue via retro-orbital em camundongo anestesiado

Fonte: FIALHO, C.F. & BIGATTI, L.E.

5.9.2. Experimento No. 2: Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose.

Neste experimento, elaborado para verificar a hipótese B, as transmissões congênita e lactogênica de *T. gondii* foram ensaiadas durante a infecção aguda em hamsters.

Num grupo com vinte hamsters fêmeas prenhes (vide protocolo de fecundação no item 5.3), 10 delas receberam 10^2 oocistos esporulados da cepa Prugniaud de *T. gondii* via oral. Para outro grupo, também composto de 10 fêmeas foi oferecido 10^3 oocistos esporulados da mesma cepa. Foi colhido sangue de todas as fêmeas 25 dias após a infecção e seus soros processados pela técnica de AD. Os recém nascidos foram eutanasiados e seus órgãos bioensaiados em camundonos como descrito no experimento 1. Metade das fêmeas, de cada grupo experimental, adotaram quatro recém-nascidos cada, de mães negativas para *T. gondii*. Esses recém nascidos adotados também foram eutanasiados e seus órgãos bioensaiados em camundonos para verificar a ocorrência de infecção lactogênica.

Índice de avaliação: O sucesso deste experimento e a validação da hipótese B, foi dado pela transmissão congênita da cepa Prugniaud em pelo menos 80% das fêmeas estudadas, e pela ausência de transmissão lactogênica naquelas hamsters que não tiveram transmissão congênita.

5.9.3. Experimento No.3: Sobrevivência após a infecção com a cepa RH e medicações

Este experimento, em associação com o experimento 4, foi delineado para testar a hipótese C.

O objetivo deste experimento foi verificar o desenvolvimento de imunidade estéril mediante infecção seguida de medicação de hamsters inoculadas co *T. gondii*, cepa RH, considerada altamente patogênica para esta espécie. Para assegurar a sobrevivência dos animais, foram testados três protocolos de infecção-medicação, descritos a seguir:

Protocolo A: Vinte fêmeas foram inoculadas via intraperitoneal com 5×10^4 taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* (e medicadas a partir do 3º. dia pós-inoculação, com sulfadiazina na água de beber (90mg%) e 1mg/Kg de pirimetamina por via oral,

diariamente, durante 15 dias. Os taquizoítos foram contados em Câmara de Neubauer (figura 13).

Protocolo B: Vinte hamsters fêmeas receberam 10^3 taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* por via intraperitoneal. Quinze destas fêmeas foram imediatamente medicadas com sulfadiazina na água de beber (90mg%) e 1mg/Kg de pirimetamina em HCl 0.1 N por via oral, diariamente por 15 dias. Vinte e cinco dias, mais tarde, foi realizada coleta sangue, e os soros processados mediante a reação de AD. As outras 5 fêmeas não foram medicadas (atuando como controles).

Para comprovar que a cepa RH não deixou infecção residual, as hamsters foram eutanasiadas 30 dias após a suspensão da medicação, e seus cérebros bioensaiados em camundongos, nos quais se buscou anticorpos específicos 25 dias após a infecção, pela técnica de AD.

Protocolo C: Seis fêmeas hamsters foram inoculadas por via subcutânea (s.c.) com 10^3 taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH e receberam simultaneamente 180 mg% SDZ na água de beber por 20 dias. Para avaliar a proteção imune nas hamsters, os animais foram observados clinicamente por 20 dias após o término da medicação. Os parâmetros observados foram comportamento, consumo de ração e água, presença de diarreia ou aborto. Foi realizada a AD dos soros destas fêmeas. Então todas foram desafiadas via s.c. com 5×10^4 taquizoítos de RH e clinicamente observados durante os 30 dias subsequentes.

Índice de avaliação: O sucesso deste experimento e a validação parcial da hipótese C, foram avaliados, pela sobrevivência de pelo menos 70% das fêmeas inoculadas, a extinção total do parasito da cepa RH de seus cérebros e pela presença de anticorpos específicos anti-*T. gondii* nos animais, pela técnica de AD.

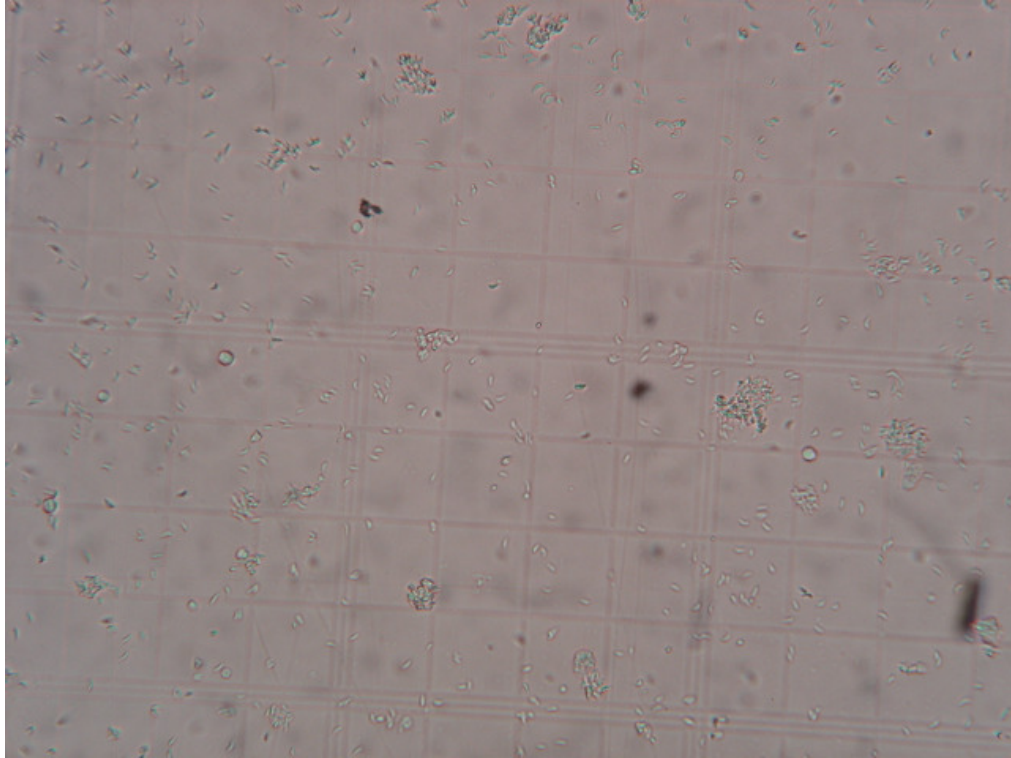


Figura 13: Taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH observado durante focalização para realizar a quantificação na Câmara de Neubauer.
Fonte: FIALHO, C.F.

5.9.4. Experimento No. 4: Proteção com cepa RH contra oocistos de *Toxoplasma gondii* de cepa heteróloga

Experimento 4.1.: Foram inoculados vinte hamsters fêmeas com 10^3 taquizoítos da cepa RH por via intraperitoneal e medicadas segundo o protocolo B do experimento 3. Trinta dias mais tarde, foi realizada a colheita de sangue das fêmeas e seus soros processados com a reação de AD. Logo, foram acasaladas com os machos, e iniciadas as pesagens sete dias mais tarde. As fêmeas detectadas prenhes foram desafiadas com oocistos das cepas Prugniaud e M3 (10 fêmeas cada cepa). Foi utilizada a menor dose de oocistos que tenha originado transmissão congênita na maior quantidade de hamsters dos grupos experimentais do experimento 2 (10^3). Fêmeas não imunizadas com RH foram mantidas como controles da transmissão: 10 fêmeas para a cepa M3 e 10 para a cepa Prugniaudos (essas últimas foram as fêmeas do experimento 2). Os recém nascidos foram eutanasiados e seus órgãos bioensaiados em camundongos. Das fêmeas utilizadas como controles foi coletado sangue 25 dias após a inoculação, e seus soros processados com a reação de AD.

Experimento 4.2.: Sessenta fêmeas hamsters foram inoculadas via s.c. com 10^3 taquizoítos de RH e medicadas segundo o protocolo C. Cinco dias após o término da medicação, as hamsters que sobreviveram foram revacinadas com 5×10^4 taquizoítos de RH via subcutânea. Trinta dias mais tarde, as hamsters que sobreviveram foram colocadas com os machos para acasalamento, e desafiadas durante prenhez com 10^4 bradizoítos (6 fêmeas), 10^2 ou 10^3 oocistos das cepas Prugniaud (5 e 9 fêmeas, respectivamente), com 10^4 bradizoítos (8 fêmeas) ou 10^2 oocistos da cepa M7741 (8 fêmeas), e 10^3 oocistos da cepa M3 (15 fêmeas). Sessenta e oito hamsters não imunes, inoculadas com as cepas desafio serviram como controle: 10^4 bradizoítos (13 fêmeas), 10^2 ou 10^3 oocistos das cepas Prugniaud (13 e 10 fêmeas, respectivamente), com 10^4 bradizoítos (12 fêmeas) ou 10^2 oocistos da cepa M7741 (10 fêmeas), e 10^3 oocistos da cepa M3 (10 fêmeas). Dez hamsters imunizadas com a cepa RH mas não desafiadas com as outras cepas serviram como controle de transmissão da cepa RH durante a segunda prenhez.

Índice de avaliação: Para o sucesso deste experimento, considerou-se ausência de transmissão congênita em pelo menos 80% das mães imunizadas.

6- RESULTADOS

Os dados apresentados a seguir refletem os resultados dos experimentos realizados para validar as hipóteses postuladas.

6.1. Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose experimental em hamster (EXPERIMENTO 1):

Tabela 7: Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com oocistos de ME49, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD do bioensaio
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Negativo
5	Negativo
6	Negativo
7	Negativo
8	Negativo
9	Negativo
10	Negativo

Tabela 8: Transmissão congênita durante a etapa crônica da toxoplasmose experimental na segunda prenhez de hamsters, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD do bioensaio
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Negativo
5	Negativo
6	Negativo
7	Negativo

A infecção crônica com *T. gondii* induzida pela inoculação de oocistos esporulados da cepa ME49, em dez fêmeas hamsters, 60 dias antes da gestação, apresentou taxa de transmissão de 0%, uma vez que nenhum dos camundongos biensaiados (com macerados de órgãos dos filhotes destas fêmeas) apresentaram sorologia positiva para esse teste (tabela 7). Na segunda prenhez a transmissão também não ocorreu (tabela 8).

6.2. Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose (EXPERIMENTO 2):

Todas as fêmeas inoculadas com 10^2 ou 10^3 oocistos de *T. gondii* da cepa Prugniaud, foram efetivamente infectadas uma vez que soroconverteram positivamente pela aglutinação direta. Entretanto nem todos os camundongos bioensaiados apresentaram resultado positivo pela AD, conforme mostram as tabelas 9 e 10.

Tabela 9: Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com 10^2 oocistos da cepa Prugniaud durante a prenhez, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da Hamster após inoculação	AD do bioensaio	AD do bioensaio dos adotados
1	Positivo	Positivo	Não adotou
2	Positivo	Negativo	Não adotou
3	Positivo	Positivo	Não adotou
4	Positivo	Negativo	Não adotou
5	Positivo	Negativo	Negativo
6	Positivo	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo	Negativo
8	Positivo	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo	Não adotou

Tabela 10: Transmissão congênita e lactogênica durante a etapa aguda da toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com 10^3 oocistos da cepa Prugniaud durante a prenhez, medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da hamster após inoculação	AD do bioensaio	AD do bioensaio dos adotados
1	Positivo	Positivo	Não adotou
2	Positivo	Positivo	Não adotou
3	Positivo	Positivo	Negativo
4	Positivo	Positivo	Negativo
5	Positivo	Positivo	Negativo
6	Positivo	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo	Não adotou
8	Positivo	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo	Não adotou
10	Positivo	Positivo	Não adotou

Neste experimento 100% das fêmeas inoculadas com 10^2 oocistos da cepa Prugniaud durante a gestação foram positivas. Em 60% dos filhotes houve transmissão transplacentária na fase aguda da toxoplasmose, e em 40% de filhotes adotados houve transmissão transmamária (tabela 9).

Utilizando uma dose maior da cepa Prugnnaud, 10^3 oocistos, também houve 100% de fêmeas positivas. Nos filhotes houve 100% de transmissão transplacentária na fase aguda da toxoplasmose, e em 40% dos filhotes adotados houve transmissão transmamária (tabela 10).

6.3. Sobrevivência após a infecção com a cepa RH utilizando medicações (EXPERIMENTO 3):

Todos os inoculados intraperitonealmente, segundo o protocolo A, morreram até o 8º. dia pós-inoculação, sendo que 6 morreram no 2º. dia, 6 no 3º. dia, 3 no 4º. dia, 2 no 5º. dia, 2 no 6º. dia e um no 8º. dia (Gráfico 1).

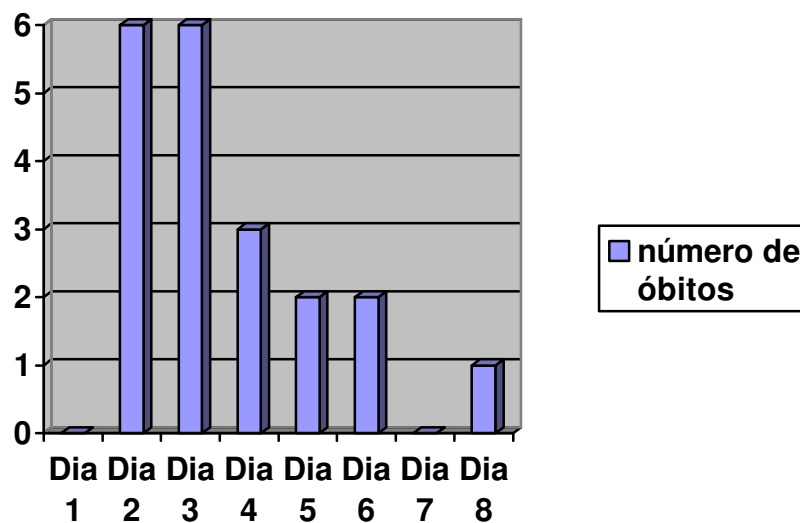


Gráfico 1: Número de óbitos/dia, das fêmeas hamsters pós-inoculação pela cepa RH de *T. gondii*

Dos 15 animais tratados segundo o protocolo B, somente 2 morreram (um no 14º. dia e outro no 17º. dia), havendo uma sobrevivência de 86,6% (13/15). Houve a extinção da cepa RH em 53,49% dos cérebros destas fêmeas (7/13). Nas demais fêmeas foi observada a sobrevivência da cepa RH deonstarda pela sorologia positiva de seis camundongos bioensaiados, conforme mostra a tabela 11.

Tabela 11: Imunidade conferida por uma cepa incompleta (RH) em fêmeas hamsters, medicadas conforme protocolo B, medidas pela Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio dos cérebros
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Negativo
6	Morreu no 14 °.dia	-
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Negativo
10	Positivo	Negativo
11	Positivo	Negativo
12	Positivo	Negativo
13	Positivo	Negativo
14	Positivo	Negativo
15	Morreu no 17°. Dia	-

Todas as 5 fêmeas, do grupo controle (inoculadas, mas não medicadas), morreram, sendo uma aos 6 dias de infecção, a segunda com 10 dias, a terceira com 13 dias a quarta com 14 dias e a quinta com 20dias. Destas fêmeas não foi realizada a colheita de sangue para aglutinação direta, pois morreram antes de 25 dias .

Tabela 12: Imunidade conferida por uma cepa incompleta (RH) em fêmeas hamsters, medicadas conforme protocolo C e observadas por parâmetros clínicos.

Animal	AD da fêmea Hamster inoculada	Sobrevivência
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Negativo

Dos 6 animais tratados segundo o protocolo C, 4 sobreviveram durante o tratamento (66,66% - tabela 12). Essas 4 fêmeas, foram imunes quando mais tarde desafiadas com a cepa RH, novamente.

6.4. Proteção com cepa Rh contra oocistos de *Toxoplasma gondii* de cepas heterólogas (EXPERIMENTO 4):

Uma única inoculação com taquizoítos de *T. gondii* cepa RH induziu coroco conversão positiva pela AD em todas as fêmeas infectadas. Esta soroconversão protegeu 100% das ninhadas das fêmeas desafiadas com oocistos da cepa Prugniaud em comparação ao grupo controle ($p=0,0001$), conforme mostram as tabelas 13 e 14. Em relação às fêmeas desafiadas com oocistos da cepa M3, a proteção foi de apenas 50% em comparação ao grupo controle ($p=0,36$), conforme tabelas 15 e 16.

6.4.1. Proteção com a cepa Rh e desafio com as cepas Prugniaud, M3 ou M7741 (Experimento 4.1.):

Tabela 13: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com Prugniaud (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo

Tabela 14: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com a cepa RH e desafiadas com Prugniaud (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Negativo
10	Positivo	Negativo

($p=0000.1$, quando comparado com os controles)

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH e desafiados com Prugniaud:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{B' \cdot a} \right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{0 \cdot 10}{10 \cdot 10} \right) \quad \% \text{ proteção: } 100$$

Tabela 15: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M3 (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Negativo
10	Positivo	Positivo

Tabela 16: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamster inoculadas com RH (10^3 taquizoítos) e desafiadas com M3 (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Negativo

($p = 0.36$, quando comparado com os controles)

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH e desafiados com M3:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{b' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{3 \cdot 10}{6 \cdot 10}\right) \quad \% \text{ proteção: } 50$$

6.4.2. Proteção com a cepa RH após duas inoculações com taquizoítos (10^3 e 5×10^4) e desafio com as cepas Prugniaud, M3 ou M7741 (Experimento 4.2):

Quando a proteção foi reforçada com a re-inoculação de taquizoítos (experimento 4.2), também houve soroconversão positiva pela AD em todas as fêmeas. O desafio com bradizoítos (10^4 , tabela 18) ou com oocistos (10^2 , tabela 20, e 10^3 , tabela 22) da cepa Prugniaud durante a gestação revelou um índice de 100% de proteção contra transmissão congênita, o que foi significativo em comparação aos grupos controles ($p=0.02$ para desafio com bradizoítos – tabela 17; $p=0.005$ para desafio com 10^2 oocistos – tabela 19; e $p=0.02$ para desafio com 10^3 oocistos – tabela 21).

Tabela 17: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com a cepa Prugniaud (10^4 bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo
11	Positivo	Negativo
12	Positivo	Positivo
13	Positivo	Negativo

Tabela 18: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com Prugniaud (10^4 bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo

($p=0.02$, quando comparado com os controles)

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH duas vezes e desafiados com bradizoítos de Prugniaud:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{B' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{0.13}{8 \cdot 6}\right) \quad \% \text{ proteção: } 100$$

Tabela 19: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com Prugnialud (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo
11	Positivo	Negativo
12	Positivo	Positivo
13	Positivo	Positivo

Tabela 20: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com Prugnialud (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo

($p= 0.005$, quando comparado com os controles).

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH duas vezes e desafiados com 10^2 oocistos de Prugnialud:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{B' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{0.13}{10.5}\right) \quad \% \text{ proteção: } 100$$

Tabela 21: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com Prugniaud (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Negativo
10	Positivo	Positivo

Tabela 22: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com Prugniaud (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Negativo

($p=0.02$, quando comparado com os controles).

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH duas vezes e desafiados com 10^3 oocistos de Prugniaud:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{b' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{0.10}{5 \cdot 9}\right) \quad \% \text{ proteção: } 100$$

Após duas inoculações com taquizoítos da cepa RH e desafio com bradizoítos (10^4 , tabela 24) ou com oocistos (10^2 , tabela 26) da cepa M7741 durante a gestação revelou um índice de 100% de proteção contra transmissão congênita, o que foi significativo em comparação aos grupos controles ($p=0.2$ para desafio com bradizoítos – tabela 23 e $p=0.01$ para desafio com oocistos – tabela 25).

Tabela 23: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M7741 (10^4 bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo
11	Positivo	Negativo
12	Positivo	Negativo

Tabela 24: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com M7741 (10^4 bradizoítos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Negativo

($p=0.2$, quando comparado com os controles).

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH duas vezes e desafiados com 10^4 bradizoítos de M7741:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{b' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{0.12}{3 \cdot 8}\right) \quad \% \text{ proteção: } 100$$

Tabela 25: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M7741 (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Negativo
10	Positivo	Positivo

Tabela 26: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com M7741 (10^2 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Negativo

($p=0.01$, quando comparado com os controles).

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH duas vezes e desafiados com 10^2 oocistos de M7741:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{b' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{0.10}{6 \cdot 8}\right) \quad \% \text{ proteção: } 100\%$$

Após as duas inoculações com taquizoítos da cepa RH e desafio com oocistos (10^3 , tabela 28) da cepa M3 durante a gestação revelou um índice de 67% de proteção contra transmissão congênita, o que foi significativo em comparação aos grupos controles (tabela 27): $p=0.05$ para desafio com oocistos.

Tabela 27: Grupo Controle. Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com M3 (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Negativo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Negativo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo

Tabela 28: Transmissão congênita durante a etapa aguda da transmissão de toxoplasmose experimental em hamsters inoculadas com RH (10^3 e 5×10^4 taquizoítos) e desafiadas com M3 (10^3 oocistos), medida segundo os resultados da Aglutinação Direta.

Animal	AD da fêmea hamster inoculada	AD do bioensaio
1	Positivo	Negativo
2	Positivo	Negativo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Negativo
5	Positivo	Negativo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Negativo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Negativo
11	Positivo	Negativo
12	Positivo	Negativo
13	Positivo	Negativo
14	Positivo	Negativo
15	Positivo	Negativo

($p=0.05$, quando comparado com os controles).

Cálculo da % de proteção vacinal conferida para hamsters imunização com RH duas vezes e desafiados com 10^3 oocistos de M3:

$$\% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{a' \cdot b}{b' \cdot a}\right) \quad \% \text{ proteção} = 100 \left(1 - \frac{3 \cdot 10}{6 \cdot 15}\right) \quad \% \text{ proteção: } 67$$

Nenhuma das 10 fêmeas controles, inoculadas com duas doses de RH e não desafiadas, transmitiram *T. gondii* para sua prole na segunda gestação.

7 – DISCUSSÃO

Em relação aos hamsters foram observados alguns problemas de manejo e reprodução. As fêmeas colocadas em cria na proporção 4:1 brigavam entre si e com o macho, causando stress, lesões e mortes. Mesmo colocadas sozinhas com os machos esses problemas ocorriam com frequência, havendo a necessidade de, mais tarde, mudarmos esse manejo, deixando as fêmeas na presença dos machos somente durante a noite. Muitas fêmeas detectadas como prenhes no início do experimento não pariram. Isso ocorre por dois motivos principais. O primeiro foi na técnica de detecção de prenhez, pois algumas fêmeas aumentavam de peso pela troca na alimentação, da utilizada no criatório comercial para a que utilizávamos no biotério do laboratório de Portozoologia (FAVET-UFRGS). A opção foi comprar as fêmeas e esperar pelo menos um mês sob o novo regime alimentar para haver uma estabilização do peso, para depois utilizá-las no experimento. Quanto a isso Freyre *et al.* (2006b) testou em camundongos 4 métodos pra detecção de prenhez, obtendo melhores resultados com a mensuração de aumento de peso do que com colpocitológico, detecção de tampão vaginal, e dilatação abdominal. Freyre *et al.* (2008a), sugere fazer em ratas a procura de espermatozoides no exsudato vaginal das fêmeas associado ao aumento de peso. Talvez seja essa uma opção para melhorar o diagnóstico de prenhez em hamsters. O segundo problema foi que algumas fêmeas tinham o hábito de canibalismo logo após o nascimento da ninhada. Foram então, intensificadas as vistorias nas gaiolas para verificação de novos partos.

Outro problema de trabalhar com hamster é a baixa taxa de natalidade durante o inverno. Este problema foi amenizado em parte, no experimento, tentando manter a temperatura ideal para essa espécie, entre 20 e 24°C (Paiva, Maffili & Santos, 2005), com o uso de ar-condicionado e aumentando o período de luz artificial.

Nas condições do experimento 1 conseguimos comprovar que não há transmissão congênita quando a infecção ocorre antes da gestação, pois as 10 fêmeas hamsters tiveram filhotes negativos no bioensaio com a Aglutinação Direta. Quanto ao índice de avaliação esse experimento obteve sucesso pois houve uma taxa de transmissão congênita de 0%, ou seja, foi menor que os 20% esperado.

Logo, as fêmeas hamsters, assim como as de camundongos Balb/C, se comportam como as mulheres em relação à transmissão crônica.

No modelo de toxoplasmose congênita experimental em hamsters, realizado por De Roever-Bonnet, em 1960, houve transmissão congênita de toxoplasmose durante a

fase crônica da infecção, porém não é possível saber exatamente a proporção desta transmissão, porque os resultados foram expressos em conjunto com a transmissão constatada em camundongos.

Dubey & Shen (1991), Zenner *et al.*, (1993) e Dubey *et al.*, (1997a), assim como em nosso experimento, não encontraram transmissão transplacentária, porém em ratas infectadas antes da prenhez. A transmissão congênita na fase crônica não ocorreu em camundongos, quando utilizadas outras cepas (Freyre *et al.*, 2006b). A transmissão crônica da toxoplasmose estudada por Freyre *et al.* (1999b), inoculando ratas, com 7 cepas de *T. gondii*, em modelo experimental semelhante ao nosso, detectaram 10% de transmissão transplacentária (9 de 89 ninhadas), sendo que quando utilizaram a cepa ME-49, 0 de 8 e 2 de 6 ninhadas foram positivas. Os autores explicam que essa transmissão do *T. gondii* foi independente do tipo de inóculo utilizado. Outros autores utilizando cepas diferentes encontraram, também, baixas taxas de transmissão: 2% (Thiermann, 1957) e 3 de 13 ninhadas (Remington *et al.*, 1961).

No experimento 2, 100% das fêmeas inoculadas com 10^2 oocistos da cepa Prugniaud durante a gestação foram positivas. Em 60% dos filhotes houve transmissão transplacentária na fase aguda da toxoplasmose, e em 40% de filhotes adotados houve transmissão lactogênica. Também, 100% das fêmeas inoculadas com 10^3 oocistos da cepa Prugniaud durante a gestação foram positivas. Nos filhotes houve 100% de transmissão transplacentária na fase aguda da toxoplasmose, e em 40% dos filhotes adotados houve transmissão transmamária.

Queremos ressaltar a importância do uso de uma dose desafio limiar que torna hábil a detecção de imunógenos de imunogenicidade moderada, que poderia passar inadvertidamente se desafios com doses muito altas fossem utilizados. No presente estudo 100 e 1000 oocistos da cepa Prugniaud foram utilizados e a segunda dose foi a que originou infecção congênita em um maior número de ninhadas, mostrando-se mais eficiente na transmissão aguda do parasito. Dessa forma, neste estudo a taxa de transmissão foi de 60 e 100% na infecção originada por 100 e 1000 oocistos, respectivamente. Taxas de transmissão mais elevadas, com algumas exceções, são atribuídas, por alguns autores ao uso de elevados inóculos de *T. gondii*. Em geral, a frequência da transmissão congênita de toxoplasma em hamsters está no mesmo nível que os experimentos com os modelos rata e camundongos (Freyre *et al.* 2001a, 2003b, 2006a).

Esse experimento obteve sucesso, uma vez que mais de 80% das fêmeas fizeram à transmissão congênita durante a etapa aguda da infecção.

Zenner *et al.* (1993), também observaram uma incidência semelhante a nossa (62,8%), porém em ratas infectadas durante a prenhez, com 1.200 cistos da cepa Prugniaud. Freyre *et al.* (2001a), infectaram ratas durante a prenhez, utilizando 12 diferentes cepas, incluindo Prugniaud, e obtiveram 0-90% de transmissão transplacentária. Mas observando apenas a Prugniaud, houve diferença significativa entre ratas que receberam dose de 2×10^2 e 10^3 cistos. Quando as ratas receberam 2×10^2 cistos de Prugniaud, 6 de 10, e 0 de 8 foram infectadas e quando receberam 10^3 6 de 8 e 7 de 8 foram positivas. Freyre *et al.* (2006b), também testaram modelos durante a etapa aguda da infecção congênita, porém em camundongos. Das 10 fêmeas inoculadas com 10^3 bradizoítos da cepa Prugniaud, 5 transmitiram a infecção congênita aos fetos, mas não foi detectada transmissão lactogênica. Num segundo modelo, mais similar ao nosso experimento 2, em que as fêmeas detectadas prenhes eram inoculadas com 10^2 ou 10^3 oocistos da cepa Prugniaud, houve transmissão para os fetos, em 7 de 15, e 5 de 10 fêmeas inoculadas com 10^2 e 10^3 oocistos da cepa Prugniaud, respectivamente. Isso é uma menor quantidade de ninhadas do que obtivemos em hamster em nosso experimento.

Sobre a transmissão lactogênica, obtivemos 4 ninhadas adotadas positivas, mas não foi possível chegar a uma conclusão definitiva, se essa via é importante ou não em hamsters, pois 8 fêmeas tiveram ninhadas positivas na transmissão congênita, inviabilizando a observação da transmissão lactogênica, principalmente porque as 4 fêmeas que transmitiram via lactogênica *T. gondii* transmitiram também via congênita para suas ninhadas. As outras duas fêmeas tiveram ninhadas negativas na transmissão congênita, porém também houve a transmissão lactogênica. Ou seja, nenhuma ninhada adotada foi positiva na transmissão lactogênica, sem ter havido também a transmissão congênita destas fêmeas para sua prole. Para superar esse inconveniente, e termos certeza de não estarmos trabalhando com influência da transmissão lactogênica, o método da gaiola de fundo falso, ou seja, com arames em uma distância que permita que o filhote caia no fundo da gaiola, causando a separação instantânea de sua mãe, pode ser utilizado (Freyre et al, 2006b).

A transmissão lactogênica não foi observada nos experimentos com ratas Fischer e camundongos BALB/c, inoculados com a cepa Prugniaud (Freyre et al, 2001a; 2006b e 2008a). Freyre *et al.* (2008a), acreditam que a ausência de transmissão

lactogênica tenha ocorrido pelas doses da cepa Prugniaud utilizadas na inoculação (10^3 oocistos, 10^3 bradizoítos e 10^5 bradizoítos). Os autores acreditam que a baixa positividade seja explicada pelo fato de que o pico da parasitemia ocorra 6 dias após a inoculação oral de Prugniaud em ratas, e que a intensidade da parasitemia é muito baixa em 10 dias pós-infecção, o que coincidiu com o parto, naquele experimento. Os autores também fazem referência de que Sepúlveda (2003), observou *T. gondii* no leite com inoculação de 250 cistos de cepa Prugniaud, e que essa dose é na verdade desproporcional, se pensarmos que a quantidade que é normalmente ingerida por humanos é de 50g de carne suína contendo, geralmente, 1 único cisto. Então esses experimentos em ratas, sugerem que há uma chance muito pequena da transmissão lactogênica ter alguma significância para humanos, pela similaridade da resistência natural entre essas duas espécies.

O experimento 3 foi realizado para testar a sobrevivência das hamsters após inoculação com RH e tratamento ou desafio e tratamento. Todas as fêmeas medicadas pelo protocolo A morreram em menos de 8 dias. Das 15 fêmeas inoculadas com RH e medicadas segundo o protocolo B, 2 morreram, havendo a sobrevivência de 86,6% (13/15). Outras 5 fêmeas (controle) inoculadas segundo o protocolo B, porém não tratadas, morreram. No protocolo C, 4 de 6 hamsters sobreviveram durante o tratamento (sobrevivência de 66,66%), e foram imunes quando desafiadas com a cepa RH. O método de desafio foi concebido e testado para imunização de hamsters com a cepa RH, desde que uma aceitável taxa de sobrevivência fosse obtida nos hamsters do protocolo C, quando eles, fossem inoculados com RH e medicados simultaneamente com sulfadiazina, e mais tarde desafiados com a mesma cepa. Um método semelhante foi utilizado em hamsters com sucesso por Elwell e Frenkel (1984b).

Sobre inoculação com RH e sobrevivência de animais, há algumas pesquisas. Segundo Fujji, Kamiyama & Hagiwara (1983), 10^5 taquizoítos da cepa RH foram suficientes para matar camundongos BALB/c em 6-7 dias, sem tratamento. Zenner *et al.* (1998), testaram infecção aguda em ratos e em camundongos, também com taquizoítos da cepa RH via intraperitoneal, e sem o tratamento. Os camundongos infectados com 10^4 taquizoítos da cepa RH tiveram um aumento no número de parasitos nos órgãos e morreram. No cérebro foram observados poucos protozoários a partir do 4º. dia de estudo. Os ratos inoculados com 10^5 taquizoítos, apresentaram seus cérebros infectados a partir do 16º. dia, mas sem casos de morte. Dubey *et al.* (1999) inocularam ratas com

1.000.000 de taquizoítos RH, que permaneceram clinicamente normais, enquanto camundongas (Swiss Webster), inoculadas com apenas 1 taquizoíto morreram com toxoplasmose aguda. Segundo Dubey & Frenkel (1998), a cepa RH, pode sim ser fatal para ratos, dependendo da rota e dose utilizadas e que as variações de resultados obtidos em ratos pode, em parte, estarem relacionadas com as mudanças na cepa RH. O que observamos em nossa pesquisa, foi que hamsters não tratadas, se comportam como as camundongas (com 100% de mortalidade), mas quando instituído tratamento elas podem se apresentar mais resistentes ao parasito, sobrevivendo, à semelhança do que ocorre com ratas.

Dubey *et al.* (1994) inocularam 14 suínos, por via intramuscular com 100.000 taquizoítos de RH e realizaram eutanásia, a partir do 2º. dia pós-inoculação até o 76º. dia. Nos suínos eutanasiados a partir do 14º. dia, foi observada a presença do parasito em camundongos bioensaiados. Os suínos permaneceram clinicamente normais, apresentando no máximo aumento de temperatura. Outros três suínos foram inoculados com 100.000 taquizoítos RH, porém por via endovenosa. Esses animais adoeceram, sendo que um entrou em coma.

Nesse experimento 3 a imunidade estéril não foi sempre alcançada, uma vez que a extinção da cepa RH no cérebro, que foi determinada por bioensaio, foi de somente 53,49% (7/13), fêmeas (do protocolo B). Jacobs & Jones (1950), inocularam ratos com RH via i.p. e eles apresentaram virulência por 7 meses. Ruchman & Fowler (1951) observaram que os parasitos sobreviviam no cérebro de ratos até dois anos após inoculação com cistos de RH. Já Hellbrügge *et al.*, 1953, 1956 raramente encontraram *T. gondii* em cortes histológicos de ratas infectadas cronicamente com RH. Pettersen (1988) observou cistos cerebrais em 1 de 2 ratos inoculado com 3×10^6 taquizoítos de RH, e em nenhum animal inoculado com quantidade menor ou igual a 3×10^5 , 6 meses após a inoculação. Ele suspeitou que o organismo na verdade, persistia como taquizoíto e não bradizoíto, pois, não era pepsina resistente. Após a passagem da cepa RH em ratas ela diminui a patogenicidade e a persistência de bradizoítos em cistos durante a infecção crônica para camundongos (Dubey & Frenkel, 1998). De Champs *et al.* (1998), observaram alguma atenuação de RH após passagem em ratos, e somente um pequeno número de cistos e bradizoítos foram detectados.

O experimento 4 foi realizado para verificar se RH (cepa incompleta) confere imunidade às fêmeas hamsters durante a prenhez, frente a uma cepa heteróloga. No Experimento 4.1 não houve transmissão de toxoplasmose congênita em 100% das mães

imunizadas com RH e desafiadas com Prugniaud e em 70% das mães imunizadas com RH e desafiadas com M3. Essa proteção foi bem mais elevada que a observada por outros autores em roedores.

Frenkel, Freyre & Smith (1986), utilizaram uma outra cepa não persistente, a ts-4, para proteção de hamsters, e conseguiram após desafio com M7741, reduzir a infecção de 32,7% para 11,3%.

Zenner *et al.* (1993), relataram que, após a exposição à cepa RH, com 8 e 12 dias de prenhes, 58,2% dos fetos de ratas foram congenitamente infectados e nas fêmeas previamente infectadas com RH, não obtiveram fetos infectados, quando as fêmeas foram re-infectadas durante a prenhez.

Freyre *et al.* (2006c) inocularam ratas Sprague-Dawley com taquizoítos da cepa RH dois meses antes da concepção e, 25 dias após a cópula, as ratas receberam 10^3 cistos da cepa Prugniaud, e M3, semelhante ao que fizemos. Um segundo desenho experimental foi realizado, porém as fêmeas recebiam 10^4 oocistos das mesmas cepas. A imunidade estéril (com a cepa RH) proporcionou, baixos níveis de proteção com cistos (38,3%), sendo que com Prugniaud foi 0/6 e M3 8/17 e com oocistos (33,3%), sendo que com Prugniaud foi 2/9 e com M3 3/5. E produziu 57 e 58% de transmissão aos não imunizados. Segundo os autores, sabe-se que a ocorrência de infecção residual com a cepa RH em ratos depende da linhagem da cepa RH, da dose usada e do tempo transcorrido entre inoculação e tentativa de recuperação. Outro ponto é o que Freyre *et al.* (2004) já haviam observado, que essa linhagem e dose de taquizoítos de RH utilizadas não provocam infecção residual que dure mais de dois meses após a inoculação em ratos. Dessa forma é possível que a imunidade obtida no âmbito dessa investigação seja estéril, havendo a necessidade de investigar-se o período de infecção residual em hamsters.

Quando uma cepa incompleta foi utilizada para imunização (imunidade estéril) e uma cepa heteróloga completa para o desafio, a proteção foi de 100% em ovelhas (Buxton *et al.*, 1991; Wilkins *et al.*, 1988) e em camundongos (McLeod *et al.*, 1988). Pettersen (1988) observaram imunidade estéril em ratas 12 semanas após a inoculação com 10^5 taquizoítos de RH e desafiados após 6 semanas com a cepa 119, menos patogênica. Eles não conseguiram recuperar *T. gondii* de cérebros de ratas bioensaidos em camundongos, 6 semanas após o desafio.

O experimento 4.2 foi realizado para se ter certeza de que os animais se tornaram imunes, devido proteção com RH, realizando um desafio extra com essa cepa, antes do desafio durante prenhez, com as cepas persistentes.

O desafio heterólogo após imunização com a cepa RH, nesse experimento conferiu total proteção (100%) em hamsters duas vezes imunizadas com a cepa RH contra desafio com bradizoítos e oocistos com as cepas Prugniaud e M-7741, mas a proteção contra oocistos de M3 foi parcial (67%). Em geral, imunidade contra a toxoplasmose congênita em hamsters se assemelha ao que ocorre em camundongos BALB/c e com as ratas Fischer, em que, ocasionalmente, alguns estágios e cepas de *T. gondii*, originam infecções transmitidas congenitalmente pelas mães (observações de Freyre, não publicadas). O interesse em testar a proteção com a cepa RH, está relacionado com sua perda de antígenos (Dubey et al, 1999) após várias passagens em laboratório. Este espectro reduzido de antígenos é favorável para a seleção de antígenos protetores, quando o desenho de uma subunidade vacinal é investigado.

8. CONCLUSÕES:

O hamster é um modelo promissor para o estudo da toxoplasmose congênita, uma vez que a infecção crônica antes da prenhez, com oocistos da cepa ME49, protegeram as ninhadas e a infecção aguda durante a prenhez, com a cepa Prugniaud, resultou em transmissão transplacentária. Este comportamento é semelhante ao que ocorre na mulher, o que reforça o estudo deste modelo.

Embora tenha ocorrido transmissão lactogênica não foi confirmada sua importância epidemiológica com a metodologia empregada.

O hamster também se mostrou promissor para o estudo da proteção contra *T. gondii* tendo em vista que a infecção com cepa RH conferiu proteção total (contra Prugniaud e M7741) ou parcial (contra M3) das ninhadas contra cepas heterólogas.

Os resultados obtidos no presente estudo encorajam novas investigações de imunidade cruzada com a cepa RH de *Toxoplasma* e sobre taxa de transmissão congênita com outras linhagens do parasito, tanto em infecções originadas com bradizoítos como oocistos, para que eles possam ser usados posteriormente para a vacina desafio, e a prevenção da toxoplasmose humana contra uma infecção por *Toxoplasma gondii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. Scientific Publication n. 503. Pan American Health Organization/ World Health Organization, Washington – EUA, 1987, p. 628- 640.

ADAMY, M.; MORAES, R.Q.; MICHELON, E.; LEITE, C.C.; COLOMBO, F.H.; RIBAS, H.O.; CENCI, A.; SANTOS, M.; PIT, G.; BENTO, L.S.; MULLER, G.; LANGOHR, I.; FLORES, M.L.; LAZAROTTO, J.J.; NOAL, S.A.; LAGAGGIO, V.R.A. 1995. **Estudos preliminares sobre toxoplasmose em gado leiteiro**. In: II Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS (Santa Maria, Brasil). p. 332.

ALEXANDER, J.; HUNTER, C.A. Immunoregulation during Toxoplasmosis. IN: LIEW, F.Y. & COX, F.E.G. **Chemical Immunology**, Karger, 1998, 204 p.

ALVES C.J., VASCONCELLOS S.A., NAVARRO I.T. & BARBOSA C.S. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Toxoplasma* em soros de caprinos de cinco centros de criação do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, cidade, v. 14, p. 75-77, 1997.

AMARAL, V. DO.; SANTOS, S.M.; REBOUÇAS M.M. Estudos preliminares sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma, por hemaglutinação, em soros de suínos provenientes dos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul, Brasil. **O Biológico**, São Paulo, n. 41, p. 105-107, 1975.

AMARAL, V. DO.; SANTOS, S.M.; REBOUÇAS M.M. Sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma em soros de caprinos e ovinos procedentes, respectivamente dos estados da Bahia e Rio Grande do Sul, BR. **O Biológico**, São Paulo, v. XLIV, n. 44, p. 331-340, 1978.

AMATO NETO, V.; MARCHI, C.R. Toxoplasmisi. In: CIMERMANN, B. & CIMERMANN, S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. Editora Atheneu, 1ª. Ed., 1999. Capítulo 18, p. 159-178.

AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E.A.S.de; LEVI, G.C.; DUARTE, M.I.S. **Toxoplasmose**. 4ed. São Paulo: Sarvier, 1995, 154p.

ANDRADE, G.M. de; CARVALHO, A.L. de; NOGUEIRA, M.G. dos S.; ORÉFICE, F. 2004. Toxoplasmose congênita – Orientação prática sobre prevenção e tratamento. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte,14: 85-91.

ARAÚJO, F.A.P. **Avaliação soropidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da região da Grande Erechim, RS – Brasil, detectados através das técnicas de imunofluorescência indireta de imunoenzimática**. 1999. 125p. Tese (Doutorado). Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – RJ, 1999.

ARAÚJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; BIGATTI, L.E. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em frangos abatidos para consumo humano em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 17, p. 23-28, 1989.

ARAÚJO, F.R.; SARTI, E.C.; CROCCI, A.J.; SEABRA, V.M.S.; AMORIM, J.H.; CUSINATO, F.Q.; ARAÚJO, C.P. de.; CARVALHO, C.M.E. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em estudantes de Medicina Veterinária de Campo grande, MS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 6, p. 1017-1019, 2000.

ARAUJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; SANTOS, E.B. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de caprinos da Região da Grande Porto Alegre/RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, n. 12, p. 35-40, 1984.

ARAUJO F.R., CARVALHO C.M.E. & BALBUENA C.B. Levantamento sorológico para *Toxoplasma gondii* em bovinos de corte do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Belo Horizonte, v. 20, p. 201-203, 1998.

BARCELOS, A.S.; LAGAGGIO, V.R.A.; CENCI, A.; COLOMBO, F.H.; KATZER, L.H.; NOAL, S.A. Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos de Uruguaiana-RS-Brasil. IN: IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS. **Anais**. Santa Maria-RS, p. 565, 1997a.

BARCELOS, A.S.; MIOLO, J.R.; KATZER, L.H.; FLORES, M.L.; LAGAGGIO, V.R.A. Hemaglutinação para toxoplasmose em aves domésticas do município de Santa Maria/RS. IN: IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS, 1997. **Anais**. Santa Maria-RS. p. 564, 1997b.

BENVISSUTO, G.A. Immunologia. In: PIZZI, H.L. **Toxoplasmosis**. 1^a ed. Argentina: Rhône Poulenc Rorer Argentina, 1997, p. 51-56.

BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. **Clínica Veterinária**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1991. 1263p.

BONAMETTI, A.M.; PASSOS, J.do N.; SILVA, E.M.K.da; BORTOLIERO, A.L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 30, n.1, p. 21-25, 1997.

BOWIE, W.R.; KING, A.S.; WERKER, D.H.; ISAAC-RENTON, J.L.; BELL, A.; ENG, S.B.; MARION, S.A. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. **The Lancet**, London, v. 350, issue 9072, p.173-177, 1997.

BOWMAN, D.D. **Parasitologia Veterinária de Georgis**, Barueri, SP: Manole, 8^a.ed, 2006. Capítulo 2, p. 83-114.

BRACCINI, G.L.; CHAPLIN, E.L.; STOBE, N.S. ARAÚJO, F.A.P.; SANTOS, N.R. Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, nos anos de 1986 a 1990. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**. Porto Alegre, n. 20, p. 134-149, 1992.

BUXTON, D.; THOMSON, K.; MALEY, S.; WRIGHT, S. & BOS, H.J. Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *Toxoplasma gondii* and their immunity to challenger when pregnant. **The Veterinary Record**, London, n. 129, p. 89-93, 1991.

CAMARGO, M.E. Alguns aspectos atuais do diagnóstico de laboratório da toxoplasmose. **Anales de La Real Academia Nacional de Medicina**, Madri, v. 155, n. 4, p. 236-239, 1995.

CAMARGO, M.E. Toxoplasmose diagnóstico sorológico. **Boletim Médico do Laboratório Bronstein**, Porto Alegre, Ano V, jan/fev, 1996, 4p.

CAPORALI, E.H.G.; SILVA, A.V.; MENDONÇA, A.O.; LANGONI, H. Comparação de métodos de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 8, p.19-24, 2005.

CARLETTI, R.T.; CONTENTE, A.P.A.; NAVARRO, I.T ; PRUDENCIO, L.B.; TSUTSUI, V.S.; MARANA, E.R.M.; ROMÃO, G.O. Surto de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí-PR, Brasil: sorologia em animais domésticos. XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado - RS. **Anais do XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. 2002.

CARLETTI, R.T.; FREIRE, R.L.; SHIMADA, M.T.; RUFFOLO, B.B.; BEGALE, L.P.; LOPES, F.M.R.; NAVARRO, I.T. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 563-568, 2005.

CARNEIRO, A.C.de A.V. **Soro-epidemiologia da toxoplasmose caprina e ovina no Estado de Minas Gerais**. 116p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 2006.

CARRUTHERS, V.B. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. **Acta Tropica**, Amsterdam, v.81, n.2. p. 111-122, 2002.

CARRUTHERS, V.B.; SUZUKI, Y. Effects of *Toxoplasma gondii* infection on the brain. **Schizophrenia Bulletin** , Oxford, v. 33, n.3, p. 745-751, 2007.

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. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 92, p. 863-864, 2006.

CAVALCANTE, A.C.R.; CARNEIRO, M.; GOUVEIA, A.M.G.; PINHEIRO, R.R.; VITOR, R.W.A. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, p. 36-41, 2008.

CHAPLIN, E.L; SANTOS, M.V.A.; BECKER, S.C.; FINGER, G.P.; RODRIGUES, R.J.D.; SILVA, N.R.S. da; ARAUJO, F.A.P.; TADEU, C.C.; MENDES, A.C.E.P.;

BASSO, F. Levantamento de reagentes a *Toxoplasma gondii* e *Trypanosoma cruzi* em soros humanos do município de Viamão, RS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.6, n.2, supl. 1; p.337, 1997.

CHAPLIN, E.L.; SCHMIDT, V.; SENSTERSEISER, L.; SILVA, N.R.S. da.; PINTO, L.D.; ARAUJO, F.A.P.; TRINDADE, D.; ALITI, G.B.; INÁCIO, K.L.; BRUSCHI, C.L. Incidência de reagentes para *Toxoplasma gondii* em trabalhadores e alunos no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, RS, Brasil. IN: I Congresso de Zoonoses, **Anais**, Rio de Janeiro, p. 174, 1987.

CHAPLIN, E.L.; SILVA, N.R.S. Toxoplasmose: medidas preventivas. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, n. 12, p. 21-24, 1984

CHAPLIN, E.L.; SILVA, N.R.S. da; SEBEN, J.C.; ARAÚJO, F.A.P.; MENDEZ, L.D.V. Cadeia epidemiológica de toxoplasmose em Guaporé, RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v.12, p. 25-34, 1984.

CHARTIER, C. & MALLEREAU, M.P.; Vaccinal efficacy of *Toxoplasma gondii* S48 strain tested in an experimental trial in goats. **Annales de Medecine Veterinaire**, Bélgica, v. 145, n. 3, p. 202-209, 2001.

CHEMELLO, D.; ECKERT, G.U.; TEIXEIRA, C.G. Imunidade a Parasita. In: SCROFERNEKER, M.L.; & POHLMANN, P.R. **Imunologia Básica e Aplicada**. Porto Alegre: Sagra Luzatto. 1998. Capítulo 22, p. 362-380.

CHIARI, C. de A.; LIMA, J.D.; & ANTUNES, C.M.F. Reação de imunofluorescência indireta e de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 121-129, 1985.

CHIARI, C. de A., LIMA, J.D.; LIMA, W. dos S.; ANTUNES, C.M.de F. Soro-epidemiologia da Toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 39, n.4, p. 587-609, 1987.

CHINCHILLA. M.; GUERRERO, O.M.; CATARINELLA, G.; REYES, L. Natural and induced blood dissemination of *Toxoplasma gondii* experimental model in white mice and hamsters. **Revista de Biología Tropical**, Costa Rica, v. 41, n. 22, p. 197-202, 1993.

CHOI, W.Y.; NAM, H.W.; KWAK, N.H.; HUH, W.; KIM, Y.R.; KANG, M.W.; CHO, S.Y.; DUBEY, J.P. Foodborne outbreaks of Human toxoplasmosis. **The Journal of Infection Diseases**, Chiacago, v. 175, n. 5, p. 1280-1282, 1997.

CORREA, F.M.A.; SALATA, E.; OLIVEIRA, M. R. *Toxoplasma gondii*: diagnóstico, pela prova de imunofluorescência indireta em suínos no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia de São Paulo**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 209-212, 1978.

CORRÊA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S.; TOGNOLI, J.F. Incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose entre

escolares do município de Presidente Prudente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 32, p. 41-46, 1972.

COSTA, A.J.; COSTA, E.P. Frequência de bovinos reagentes à imunofluorescência indireta para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, MG, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 30, p. 47-51, 1978.

COSTA, A.J.; ÁVILA, F.A.; KASAI, N.; PAULILLO, A.C.; SILVA, M.B.da.; GALESCO, H. Anticorpos anti-*toxoplasma* em soros de bovinos do município de Jaboticabal; São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 45, p. 299-302, 1978.

COSTA A.J., ISHIZUKA M.M., MARQUES L.C., VIDOTTO O., ROCHA U.F. & IKEDA A. Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo State, Brazil. **ARS Veterinária, cidade**, v. 2, p. 75-79, 1986.

COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.D.; VARANDAS, N.P.; VARANDAS, N.P.; SOBRAL, E. de A.; BORGES, F. de A.; CASTAGNOLLI, K.C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Semina: Ciência Agrárias**, Londrina, 22:61-66, 2001.

COSTA, T.L. da; SILVA, M.G. da; RODRIGUES, I.M.X.; BARBARESCO, A.A.; AVELINO, M.M.; CASTRO, A.M. de. Diagnóstico clínico e laboratorial da toxoplasmose. **NewsLab**, São Paulo, v. 85, p. 88- 104, 2007.

COUPER, K.N; NIELSEN, H.V; PETERSEN, E.; ROBERTS, F.; ROBERTS, C.W.; ALEXANDER, J. DNA vaccination with the immunodominant tachyzoites surface antigen (SAG-1) protects against adult acquired *Toxoplasma gondii* infection but does not prevent maternofortal transmission. **Vaccine**, Guildford, v. 21, p. 2813-2820, 2003.

COUTINHO, S.G.; LOBO, R.; DUTRA, G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 68, p. 866-868, 1982.

COWEN, D.; WOLF, A. Experimental congenital toxoplasmosis : I. the vagina as a portal of entry of toxoplasma in the mouse. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 92, p. 393-402, 1950.

DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T. da; HAMANN, M.P.V.; AMENDOEIRA, M.R.R. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1133-1137, 2004.

D'ANGELINO, J.L.; ISCHIZUKA, M.M.; Toxoplasmose suína. III. Avaliação da prevalência de infecção toxoplásmica em rebanhos suínos pela prova de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. **Boletim da Oficina Sanitária Panamericana**, Washington, v.100, n. 6, p. 634-647, 1986.

DAO, A.; FORTIER, B.; SOETE, M.; PLENAT, F.; DUBREMENTZ, J.F. Successful reinfection of chronically infected mice by a different *Toxoplasma gondii* genotype. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 31, p. 63-65, 2001.

DARCY, F.; FOU DRINIER, F; MOUGEOT, G.; DECOSTER, A.; CARON, A.; MARX-CHEMLA, C.; CAPRON, A.; PINON, J.M. Diagnostic value of specific IgA antibodies in AIDS patients with *Toxoplasma* infection: a bicentric evaluation. **Immunology Letters**, New York, v. 30, n. 3, p. 344-347, 1991.

DARDÉ, M.L. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. **Annali dell' Istituto Superiore di Sanita**, Roma, v. 40, p. 57-63, 2004.

De CHAMPS, C.; PELLOUX, H.; DECHELOTTE, P.; GIRAUD, J.C.; BALLY, N.; AMBROISE-THOMAS, P. *Toxoplasma gondii* infection in rats by the RH strain: inoculum and age effects. **Parasite**, Paris, v. 5, n. 3, p. 215-218, 1998.

DELIBAS, S.B.; ERTABAKLAR, H.; ERTUG, S. Evaluation of antigenic variations between two virulent toxoplasma strain. **Journal of Medical Microbiology**, Stanford, v. 55, p. 1333-1335, 2006.

DENKERS, E.Y.; BUTCHER, B.A. Sabotage and exploitation in macrophages parasitized by intracellular protozoans. **Trends in Parasitology**, London, v.21, n.1, p. 35-41, 2005.

DENKERS, E.Y.; CASPAR, P. & SHER, A. *Toxoplasma gondii* possesses a superantigen activity that selectively expands murine T cell receptor V B5 – bearing CD8+ lymphocytes. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 180, p. 985-994, 1994.

DE ROEVER-BONNET, H. Congenital *Toxoplasma* infections in mice and hamsters with avirulent strain. **Tropical and Geographical Medicine**, Amsterdam, v. 21, p. 443-450, 1960.

DE ROEVER-BONNET, H. Mice and golden hamster infected with an avirulent and a virulent *Toxoplasma* strain. **Tropical and Geographical Medicine**, Amsterdam, v. 15, p. 45-60. 1963.

DE ROEVER-BONNET, H. *Toxoplasma* parasites in different organs of mice and hamsters infected with avirulent and virulent strains. **Tropical and Geographical Medicine**, Amsterdam, v. 4, p. 337-345, 1964.

DEROIN, F.; LACROIX, C.; SUMYUEN, M.H.; ROMAND, S.; & GARIN, Y.J.F. Modèles expérimentaux de toxoplasmose. Applications pharmacologiques. **Parasite**, Paris, v.2, p.243-256, 1995.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.J. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection. Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.11, p. 562-568, 1980.

- DIMIER- POISSON, I.; ALINE, F.; BOUT, D.; MÉVÉLEC, M-N. Induction of protective immunity against toxoplasmosis in mice by immunization with *Toxoplasma gondii* RNA. **Vaccine**, Guildford, v. 24, n. 10, p. 1705-1709, 2006.
- DUBEY, J.P. Comparative infective of *Toxoplasma gondii* bradyzoites in rats and mice. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 84, n. 6, p.1279-1282, 1998a.
- DUBEY, J.P. Distribution of tissue cysts in organs of rats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 83, n. 4, p. 755-757, 1997a.
- DUBEY, J.P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v.81, n. 3, p. 410-415, 1995.
- DUBEY, J.P. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for rats. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 82, n.6, p. 951-956, 1996a.
- DUBEY, J.P. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine livers and public health significance of toxoplasmosis in goats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 177, n.12, p. 1203-1207, 1980.
- DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.
- DUBEY J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, n. 1-2, p. 65-70, 1996b.
- DUBEY, J.P. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0,85-6% NaCl solutions at 4-20C. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 83, n. 5, p. 946-949, 1997b.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 205, n. 11, 1593-1598, 1994.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: PALMER, S.R.; SOULSBY, L. and SIMPSON, D.I.H. **Zoonosis**. Oxford Medical Publication. 1998b. Capítulo 46, p.579-592.
- DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of Animals and Man**. CCR Press: Boca Raton, Florida. 1988, 218 p.
- DUBEY, J.P; FRENKEL, J.K. Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. **Veterinary Pathology**, California, v. 11, n.4, p. 350-379, 1974.
- DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis of rat: areview, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 1-32, 1998.
- DUBEY, J.P.; SHEN, S.K. Rat Model of Congenital Toxoplasmosis. **Infection and Immunity**, Washington, v. 59, n. 9, p. 3301-3302, 1991.

DUBEY, J.P.; TOWLE A. Toxoplasmosis in sheep: A review and annotated bibliography. **Miscellaneous Publication**, n. 10, Commonwealth Institute of Parasitology (ed) St. Albans, Herts UK, 1986, 152p.

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

DUBEY, J.P.; MURRELL, K.D.; FAYER, R.; SCHAD, G.A. Distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in commercial cuts of pork. **Jornal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 188, n.9, p. 1035-1037, 1986.

DUBEY, J.P.; LEIGJTY, J.C.; BEAL, V.C.; ANDERSON, W.R.; ANDREWS, C.D.; THULLIEZ, Ph. National seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v.77, n.4, p. 517-521, 1991.

DUBEY, J.P.; BAKER, D.G.; DAVIS, S.W.; URBAN, J.F. Jr.; SHEN, S.K. Persistence of immunity to toxoplasmosis in pigs vaccinated with a nonpersistent strain os *Toxoplasma gondii*. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 55, n.7, p. 982-987, 1994.

DUBEY, J.P.; KOTULA, A.W.; SHARAR, A; ANDREWS, C.D.; LINDSAY, D.S. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v.76, n.2, p. 201-204, 1990.

DUBEY, J.P.; NAVARRO, I.T.; GRAHAM, D.H.; DAHL, E.; FREIRE, R.L.; PRUDÊNCIO, L.B.; SREEKUMAR, C.; VIANNA, M.C.; LEHMANN, T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 117, p. 229-234, 2003.

DUBEY, J.P.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.; FRENKEL, J.K. Infection and immunity with the RH strain of *Toxoplasma gondii* in rats and mice. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 85, n. 4, p. 657-662, 1999.

DUBEY, J.P.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.; THULLIEZ, P. Toxoplasmosis in rats (*Rattus norvegicus*): congenital transmission to first and second generation offspring and isolation of *Toxoplasma gondii* from seronegatives rats. **Parasitology**, Cambridge, v. 115, Pt 1, p. 9-14, 1997a.

DUBEY, J.P., SPEER, C.A.; KWOK, O.C.H.; BLIXT, J.A. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion im mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 83, n. 5, p. 870-882, 1997b.

DUBREMETZ, J.F. Biologie du toxoplasme et toxoplasnose. **Annales de L'institut Pasteur**, Paris, v. 10, n.1, p. 107-112, 1999.

EL-MALKY, M.; SHAOHONG, L.; KUMAGAI, T.; YABU, Y.; NOURELDIN, M.S.; SAUDY, N.; MARUYAMA, H.; OHTA, N. Protective Effect of Vaccination with *Toxoplasma* Lysate Antigen and CpG as an Adjuvant against *Toxoplasma gondii* in

Susceptible C57BL/6 Mice. **Microbiology and Immunology**, Tokio, v. 49, p. 639-646, 2005.

ELSAID M.M.A.; MARTINS, M.; FRÉZARD, F.; BRAGA, E.M.; VITOR, R.W.A. Vertical Toxoplasmosis in a Murine Model. Protection after Immunization with Antigens of *Toxoplasma gondii* Incorporated into Liposomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 99-104, 2001.

ELSAID, M.M.A.; VOTIR, R.W.A.; FRÉZARD, F.J.G.; MARTINS, M.S. Protection against Toxoplasmosis in Mice Immunized with Different Antigens of *Toxoplasma gondii* Incorporated into Liposomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 4, p. 485-490, 1999.

ELWELL, M.R.; FRENKEL, J.K. Acute toxoplasmosis in hamsters and mice: measurement of pathogenicity by fever and weight loss. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 45, n.12, p. 2663-2667, 1984a.

ELWELL, M.R.; FRENKEL, J.K. Immunity to toxoplasmosis in hamsters. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 45, n.12, p. 2668-2674, 1984b.

ESCAJADILLO, A.; FRENKEL, J.K. Experimental toxoplasmosis and vaccine tests in *Aotus* monkeys. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, Stanford, v. 44, n. 4, p. 382-389, 1991.

ESCOPELLI, K.S. **Avaliação sorológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de ovinos da região da Grande Porto Alegre/RS, através das técnicas de Hemaglutinação Indireta (HAI) e Imunofluorescência Indireta (IFI)**. 2004. 86p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS. 2004.

FARIA, E.B.; GENNARI, S.M.; PENA, H.F.J.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, M.L.C.R.; AZEVEDO, S.S. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 149, p. 126-129, 2007.

FERREIRA, G.L.S. **Mastócitos de camundongos BALB/c e C57BL/6 e a susceptibilidade a infecção por *Toxoplasma gondii* (cepas RH e ME-49)**. 2005. 89p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Uberlândia. PPG em Imunologia e Parasitologia Aplicada. Uberlândia – MG. 2005.

FIALHO, C.G.; ARAUJO, F.A.P. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii*, em soros de suínos criados e abatidos em frigoríficos da Região da Grande Porto Alegre – RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 893-897, 2003.

FIGUEIREDO, J.F.; CABRAL, D.D.; SILVA, D.A.O. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos da região de Uberlândia, Minas Gerais. IN: II Congresso de Medicina Veterinária do Cone Sul, XIII Congresso Estadual de Medicina Veterinária, XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET). **Anais**, Gramado-RS, 1997, DPA 043, p. 193.

FIGLIUOLO, L.P.C.; KASAI, N.; RAGOSO, A.M.A.; DE PAULA, V.S.O.; DIAS, R.A.; SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, n. 123, p.161-166, 2004a.

FIGLIUOLO, L.P.C.; RODRIGUES, A.; VIANA, R.; AGUIAR, D.; KASAI, N.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 55, p. 29-32, 2004b.

FLORI, P. HAFID, J.; BOURLET, H.; RABERIN, H.; GENIN, C.; TRAN MANH SUNG, R. Experimental model of congenital toxoplasmosis in guinea-pig: use of quantitative and qualitative PCR for the study of maternofetal transmission. **Journal of Medical Microbiology**, Stanford, v. 51, p. 871-878, 2002.

FOULON, W.; NAESSENS, A.; HO-YEN, D. Prevention of congenital toxoplasmosis. **Journal of Perinatal Medicine**, Berlin, v. 28, p. 337-343, 2000.

FREIRE R.L., GIRALDI N., VIDOTTO O. & NAVARRO I.T. Levantamento soropidemiológico da toxoplasmose em ovinos na região de Londrina, Paraná / Epidemiological study of ovine toxoplasmosis in Londrina region, Parana State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 47, p. 609-612, 1995.

FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; GENNARI, S.M. Vaccination of pigs with *Toxoplasma gondii* antigens incorporated in immunostimulating complexes (iscoms). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, p. 388-396, 2003

FRENKEL, J.K. Common questions on toxoplasmosis: veterinary and medical public health considerations. **Veterinary Small Animal Clinic**, v. 77, n. 8, p. 1188-1196, 1982.

FRENKEL, J.K. Immunity in toxoplasmosis. **Paho Bulletin**, Oxford, v. 19, n. 4, p. 354-367, 1985.

FRENKEL, J.K. La inmunidade e la toxoplasmosis. **Boletim da Oficina Sanitária Panamericana**, Whashington, v. 100, n.3, p. 283-298, 1986.

FRENKEL, J.K. Ocular lesions in hamsters with chronic *Toxoplasma* and *Besnoitia* infection. **American Journal of Ophthalmology**, Amsterdam, v. 3, p. 203-225; 1955.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo, Atheneu, 1997. Capítulo 99, p. 1290-1306.

FRENKEL, J.K.; SMITH, D.D. Immunization of cats against shedding of *Toxoplasma* oocysts. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 68, n. 5, p. 744-748, 1982.

FRENKEL, J.K.; FREYRE, A.; SMITH, D.D. Test of nonpersistent ts-4 vaccine in mice and hamsters: Appearance of immunity vs persistent, and protection against transplacental infection. **Program and abstracts of the 61st Annual Meeting of the American Society of Parasitologists**: Abstract Nr. 88, 1986.

FRENKEL, J.K.; PFEFFERKORN, E.R.; SMITH, D.D.; FISHBACK, J.L. Prospective vaccine prepared from a new mutant of *Toxoplasma gondii* for use in cats. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 52, p. 759-763, 1991.

FREYRE A. Vacunas contra *Toxoplasma*. **Segundo Congreso Internacional de Toxoplasmosis**. Santa Fé Bogotá, Colombia, Junio 4-6 de 1998.

FREYRE, A.; FALCÓN, J. **Toxoplasmosis en las especies domésticas y como zoonosis**. Departamento de Publicaciones de la Universidad (Ed.)(Uruguay), 1989. 339p.

FREYRE A.; BONINO, J.; FALCÓN, J.; CASTELLAS, D; CORREA, O.; CASARETTO, A. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 81; i. 1, 85-88, 1999a.

FREYRE, A.; CHOMARANSKI, & FISHBLACK, J.L. Immunization of cats with tissue cyst, bradyzoites, and tachyzoites of the t-263 strain of *Toxoplasma gondii*. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 79, n. 5, p. 716-719, 1993.

FREYRE, A.; CORREA, O.; FALCÓN, J.; MENDEZ, J.; GONZÁLEZ, M.; VENZAL, J.M. Some factors influencing transmission of *Toxoplasma* in pregnant rats fed cysts. **Parasitology Research**, Berlin, v. 87, p. 941-944, 2001a.

FREYRE, A.; COLOMBO, A.; D'ANGELO, J.M.; FALCÓN, J. Prevalencia de la infección toxoplásmica en cerdos en el Uruguay y su significación zoonótica. **Avances en Ciencias Veterinarias**, Santiago, v. 6, n. 2, 166-171, 1991.

FREYRE, A.; FALCÓN, J.; CORREA, O.; ELHOU, S.E.; MENDEZ, J.; GEDDA, C. Congenital transmission of experimental chronic toxoplasmosis in rats. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 85, n. 4, p. 746-748, 1999b.

FREYRE, A.; FALCÓN, J.; CORREA, O.; MENDEZ, J.; GONZÁLEZ, M.; VENZAL, J. Residual infection of 15 *Toxoplasma* strains in the brain of rats fed cysts. **Parasitology Research**, Berlin, v. 87, p. 915-918, 2001b.

FREYRE, A.; FALCÓN, J.; CORREA, O.; MENDEZ, J.; GONZÁLEZ, M.; VENZAL, J.; MORGADES, D. Cysts burden in the brain of Wistar rats fed *Toxoplasma* oocysts. **Parasitology Research**, Berlin, v. 89, p. 342-344, 2003a.

FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MENDEZ, J.; CORREA, O.; MORGADES, D.; RODRIGUES, A. An investigation of sterile immunity against toxoplasmosis in rats. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 107, n. 1/2, p. 14-19, 2004.

- FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MÉNDEZ, J.; GASTELL, T.; VENZAL, J.M. *Toxoplasma gondii*: Cross-immunity against the enteric cycle. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 115, p. 48-52, 2007.
- FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MÉNDEZ, J.; GONZÁLEZ. *Toxoplasma gondii*: An improved rat model os congenital infection. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v.120, p. 142-146, 2008a.
- FREYRE, A.. FALCÓN, J.; MÉNDEZ, J.; GONZÁLEZ, M. *Toxoplasma gondii*: Differential protection rates by two strains against cyst formation in a rat model. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 114, p. 265-270, 2006a.
- FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MÉNDEZ, J.; GONZÁLEZ. *Toxoplasma gondii*: Protection against colocization of the brain and muscles in a rat model. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 119, p. 252-255, 2008b.
- FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MENDEZ, J.; GONZÁLEZ, M.; VENZAL, J; MORGADES, D. Fetal toxoplasma infection after oocyst inoculation of pregnat rats. **Parasitology Research**, Berlim, v. 89, p. 352-353, 2003b.
- FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MÉNDEZ, J.; RODRIGUEZ, A.; CORREA, L.; GONZÁLEZ, M. Refinement of the mouse modelo of congenital toxoplasmosis. **Experimental Parasitology**, Amsterdam. v. 113, p. 154-160, 2006b.
- FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MÉNDEZ, J.; RODRIGUEZ, A.; CORREA, L.; GONZALEZ, M. *Toxoplasma gondii*: Partial cross-protection among several strains of the parasite against congenital transmission in a rat model. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 112, p. 8-12, 2006c.
- FREYRE, A., QUEIRUGAM G.; GEDDA, C.; CARMONA, C.; FRENKEL, J.K. Soroepidemiología de la toxoplasmosis em residentes de Montevideo. **Revista de Diagnóstico Biológico**, Madri, v. 39, p. 237-242, 1990.
- FUJII, T.U.; KASAI, N.; VASCONCELLOS, S.A.; RICHTZENHAIN, L.J.; CORTEZ, A.; SOUZA, S.L.P.; BARUSELLI, P.S.; NISHI, S.M.; FERREIRA. F.; GENNARI, S.M. Anticorpos anti-*Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da Região do Vale do Ribeira São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, p. 5-9, 2001.
- FUJII, H.; KAMIYAMA, T.; HAGIWARA, T. Species and strain differences in sensitivity to *Toxoplasma gondii* among laboratory rodents. **Japanese Journal of Medical Science and Biology**, n. 36, p. 343-346, 1983.
- FUX, B.; FERREIRA, A.M.; CASSALI, G.D.; TAFURI, W.L.; VITOR, R.W.A. Experimental toxoplasmosis in Balb/c mice. Prevention of vertical disease transmisson by treatment and reproductive failure in chronic infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 1, p.121-126, 2000.
- GAGNE, S.S. Toxoplasmosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 122-126, 2001.

GALISTEO Jr., A.J. *Toxoplasma gondii* VS radiação ionizante: Estudo da imunidade intestinal em camundongos C57BI/6j experimentalmente vacinados com taquizoítos irradiados. 2004. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Autarquia Associada à Universidade de São Paulo. 2004.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Levantamento soropidemiológico da toxoplasmose em moradores da zona rural do município de Guaraci, Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 63-67, 1995.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; MARANA, E.R.M. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, p. 123-127, 2000.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, S.M.; NAVARRO, I.T.; MACHADO, R.Z.; SINHORINI, I.L.; FREIRE, R.L.; MARANA, R.M.; TSUTSUI, V.; CONTENTE, A.P.A.; BEGALE, L.P. Partial protection against tissue cysts formation in pigs vaccinated with crude rhoptry proteins of *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 129, p. 209-217, 2005.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C.de; KOBILKA, E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural da Jaguapitã (Paraná), Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v.6, n.3, p. 157-163, 1999a.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C.de. 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. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999b.

GARCIA, J.L., NAVARRO, I.T.; BIAZZONO, L.; FREIRE, R.L.; da SILVA GUIMARÃES Jr., J.; CRYSSAFIDIS, A.L.; BUGNI, F.M.; da CUNHA, I.A.; DIAS, R.C. Protective activity against oocysts shedding in cats vaccinated with crude rhoptry of the *Toxoplasma gondii* by the intranasal route. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 145, n. 3-4, p. 197-206, 2007.

GAZÊTA G.S., DUTRA A.E.A., NORBERG A.N., SERRA-FREIRE N.M., SOUZA W.J.S., AMORIN M. & LOPES L.M.S. Short Communication: Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Belo Horizonte, v. 6, p. 87-91, 1997.

GIL, C.D.; MINEO, J.R.; SMITH, R.L.; OLIANI, S.M. Mast cells in the eyes of *Callosy callosus* (Rodentia: Cricetidae) infected by *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Research**, Berlim, v. 88, n. 6, p. 557-562, 2002.

GRÜNSPAN, E.D.; MOREIRA, W.S.; EDELWEISS, M.I.A.; ULON, S.N.; DAUDT, H.M.L. Imunoglobulinas antitoxoplásmicas e retinocoroidite em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 261-264, 1995.

GONDIM, L.F.P.; BARBOSA Jr., H.V.; RIBEIRO FILHO, C.H.A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brasil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 82, n.4, p. 273-276, 1999.

GORMLEY, P.D.; PAVESIO, C.E.; LUTHERT, P.; LIGHTMAN, S. Retinochoroiditis is induced by oral administration of Tooplasma cysts in the hamster model. **Experimental Eye Research**, Amsterdam, v. 68, p. 657-661, 1999.

GORMLEY, P.D.; PAVESIO, C.E.; MINNSIAN, D.; LIGHTMAN, S. Effects of drugs therapy on *Toxoplasma* cysts in an animal model of acute and chronic disease. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, Stanford, v. 39, p. 1171-1175, 1998.

GRÜNSPAN, E.D.; MOREIRA, W.S.; EDELWEISS, M.I.A.; ULON, S.N.; DAUDT, H.M.L. Imunoglobulinas antitoxoplásmicas e retinocoroidite em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria v. 25, n. 2, p. 261-264, 1995.

GUERREIRO-BERMÚDEZ, O.M.; CHINCHILLA-CARMONA, M.; CATARINELLA-ARREA, G.; CASTRO-CASTILLO, A. ABRAHAMS-SANDÍ, E. Patrón de transito intestinal de los ooquistes de *Toxoplasma gondii* en rata, ratón y hamster. **Parasitología al Día**, Santiago, v. 18, n.3-4, p. 71-76, 1994.

GUIMARÃES, A.M.; RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D.; ALMEIDA, T.M.B. Freqüência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.44, n. 1, p. 69-71, 1992.

GUPTA, R.K.; SIBER, G.R. Adjuvants for human vaccines-current status, problems and future prospects. **Vaccine**, Guildford, v. 13, n.14, p. 1263-1276, 1995.

HASSAN, M.; HEGAB, M.; ABAZA, B.E.; NASR., M.E.; MOWAFY, N.M. Specific anti-*Toxoplasma* antibodies in relation to infection and reinfection using different infective stage. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 119-129, 1999.

HAUMONT, M.; DELHAYE, L.; GARCIA, L.; JURADO, M.; MAZZU, P.; DAMINET, V.; VERLANT, V.; BOLLEN, A.; BIEMANS, R.; JACQUET, A. Protective immunity against congenital toxoplasmosis with recombinant SAG1 protein in a Guinea Pig. **Infection and Immunity**, Washington, v. 68, n. 9, p. 4948-4953, 2000.

HELBRÜGGE, T.F.; DAHME, E.; HELLBRUGGE, F.K., Experimental animal observations on transplacental infection with *Toxoplasma*. **Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie**, Alemanha, v. 4, n.3, p.312-22, 1953.

HELBRÜGGE, T.F.; SPIEGLER, W.; GREWING, W. Clinical, morphologic and serologic findings in generalized toxoplasmosis in rats. **International Journal of Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 165, n. 5-7, p. 495-506, 1956.

HIRAMOTO, R.M.; GALISTEO, Jr.A.J.; DO NASCIMENTO, N.; DE ANDRADE, H.F. 200 Gy sterilised *Toxoplasma gondii* tachyzoites maintain metabolic functions and mammalian cell invasion, eliciting cellular immunity and cytokine response similar to natural infection in mice. **Vaccine**, Guildford, v. 20, p. 2072-2081. 2002.

HOWE, D.K.; SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human diseases. **The Journal of Infection Diseases**, Chicago, v.172, n.6, p. 1561-1566, 1995.

IGARASHI, M.; KANO, F.; TAMEKUNI, K.; KAWASAKI, P.M.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; VIDOTTO, M.C.; MACHADO, R.Z; GARCIA, J.L. *Toxoplasma gondii*: cloning, sequencing, expression, and antigenic characterization of ROP2, GRA5 and GRA7. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n.2, p. 305-313, 2008a.

IGARASHI, M.; KANO, F.; TAMEKUNI, K.; MACHADO, R.Z.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; VIDOTTO, M.C.; GARCIA, J.L. *Toxoplasma gondii*: evaluation of an intranasal vaccine using recombinant proteins against brain cyst formation in BALB/c mice. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 118, n.3, p. 386-392, 2008b.

INNES, E.A. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Amsterdam, v. 20, n. 2, p. 131-138, 1997.

ISHIZUKA, M.M. Avaliação da frequência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta (Anti-IgG) em magarefes. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 155-158, 1978a.

ISHIZUKA, M.M. Avaliação da frequência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta em suínos de matadouro do município de São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 151- 154, 1978b.

ISMAEL, A.B.; SEKKAI, D.; COLLIN, C.; BOUT, D.; MÉVÉLEC, M-N. The MIC3 gene of *Toxoplasma gondii* is a novel potent vaccine candidate against toxoplasmosis. **Infection and Immunity**, Washington, v. 71, n.1, p. 6222-6228, 2003.

JACOBS, L.; JONES, F. The parasitemia in experimental toxoplasmosis. **The Journal of Infections Diseases**, Chicago, v. 87, p. 78-89, 1950.

JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M.J. O sistema imune na saúde e na doença. **Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. p.357-358.

JENKINS, M.C. Advances and prospects for subunit vaccine against protozoa of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 22, n.101, p.291-310, 2001.

JIANG, S.F.; ZHANG, S.Y.; CAO, L.; PAN, C.E.; WEI, M.X. Development of immunoblot kit for the detection of anti-Toxoplasma antibodies. **Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases**, v. 23, n. 6, p.449-52, 2005.

JORGET, E.; MELKEBEEK, V.; DE CRAEYE, S.; DEWIT, J.; VERHELST, D.; COX, E. An enhanced GRA1-GRA7 cocktail DNA vaccine primes anti-Toxoplasma immune response in pigs. **Vaccine**, Guildford, v. 26, n. 8, p. 1025-1031, 2008.

KATZER, L.H; LAGAGGIO, V.R.A.; BARCELOS, A.S.; ALVES, C.S.P.; DOYLE, R.L.; NOAL, S.A. Estudo da prevalência da toxoplasmose em alunos do curso de Medicina Veterinária da UFSM - dados preliminares. In: IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino, Universidade Federal de Santa Maria –RS, 1997. **Anais: UFSM**, 1997, p.714.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. IN: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Editora Atheneu, 10ed. 2002. Capítulo 18, p. 147-156.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 41, n.4, p.229-235, 2005.

LARANJEIRA, N.L.; ISHIZUKA, M.M.; HYAKUTAKI, S. Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta no Mato Grosso do Sul, Brasil. **Boletim da Oficina Sanitária Panamericana**, Washington, v. 64, p. 58-61, 1985.

LARSSON L.E. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela Reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, cidade, v. 14, p. 582-588, 1980.

LAZZAROTTO, J.J.; LAGAGGIO, V.R.A.; BARCELOS, A.S.; SILVA, D.C.; KATZER, L.H. Estudo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em bovinos de leite do município de Santa Maria com caracterização parcial das propriedades investigadas. In: IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino, Universidade Federal de Santa Maria-RS, 1997. **Anais, UFSM**, p. 727.

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.; MERINPELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, Lawrence, v. 27, n. 1, p. 37-58, 1980.

LEVINE, N.D. **Veterinary Protozoology**. Ames, Iowa State University Press, EUA, 1985. Capítulo 8, p. 249-255.

LETSCHER-BRU, V.; PFAFF, A.W.; ABOU-BACAR, A.; FILISETTI, D.; ANTONI, E.; VILLARD, O.; KLEIN, J-P; CANDOLFI, E. Vaccination with *Toxoplasma gondii*

SAG-1 protein is protective against congenital toxoplasmosis in BALB/c mice but not in CBA/J mice. **Infection and Immunity**, Washington, v. 71, n.11, p. 6615-6619, 2003.

LIMA, J.T.; AHID, S.M.M.; BARRETO JÚNIOR, R.A.; PENA, H.F.de J.; DIAS, R.A.; GENNARI, S.M. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal Research Animal Science**, São Paulo, v. 45, p. 81-86, 2008.

LIMA J.N., FELÍCIO P.S., FRANCO P.M., LARA M.C.C.S., CUNHA E.M.S., QUAGLIARI D., GOMES L.O., VILLALOBOS E.M.C. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) em suínos abatidos em matadouros no estado de São Paulo, SP, Brasil. **O Biológico**, São Paulo, v. 67, p. 25-51, 2007.

LUFT, B.J.; HAFNER, R. 1990. Toxoplasmic encephalitis. **AIDS**, San Francisco, v. 4, n. 6, 593-595.

MACHADO, T.M.M. & LIMA, J.D. Frequência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 39, n.2, p.255-264, 1987.

MACIEL, K.P. **Inquérito sorológico pra a detecção de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em caprinos (*Capra hircus*) criados nos municípios de Gravataí e Viamão, Região da Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.** 2004. 63p. Dissertação (Mestrado). PPGCV- UFRGS. Porto Alegre. 2004.

Mc LEOD, FRENKEL, J.K.; ESTES, R.G.; MACK, D.G.; EISENHAEUER, P.D.; GIBORI, G. Subcutaneous and intestinal vaccination with tachyzoites of *Toxoplasma gondii* and acquisition of immunity to peroral and congenital *Toxoplasma* challenge. **The Journal of Immunology**, Maryland, v. 140, p. 1632-1637, 1988.

MAINARDI R.S., STACCHISSINI A.V.M., LANGONI H., PADOVANI C.R. & MODOLO J.R. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, cidade, v. 9, p. 97-99, 2000.

MARANA, E.R.M.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R.L.; LOTT, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do Norte do Paraná - Brasil. **Semina, Ciências Agrárias**, Londrina, v. 15, p. 38-40, 1994.

MARQUES, L.C.; COSTA, A.J.; LOPES, C.W.G.; NETO, J.C.L. Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: clinical signs, parasitemia and immunological observations. **Semina, Ciências Agrárias**, Londrina, v. 19, n.1, p. 45-49, 1998.

MARTINS, J.R.; HANCOCK, R. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em ovinos do RS: prevalência e implicações epidemiológicas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 1, sessão 1, resumo 6, 1991.

MARTINS, J.R.; HANCOCK, R.; CORRÊA, B.L.; CARESÉR, V.H. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em ovinos no município de Livramento, RS: prevalência e implicações epidemiológicas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 4, n. 1, p. 27-29, 1998.

MARTINS, M.C.; SILVEIRA, C.M.; JAMRA, L.F.; BARROS, P.M.; BELFORT Jr., R.; RIGUEIRO, M.P.; NEVES, R.A. Isolamento de *Toxoplasma gondii* de carnes e derivados, provenientes de região endêmica de toxoplasmose ocular –Erechim –RS. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 6066, 1990.

MARTIN, V.; SUPANITSKY, A.; ECHEVERRIA, P.C.; LITWIN, S.; TANOS, T.; ROODT, A.R. de.; GUARNERA, E.A.; ANGEL, S.O. Recombinant GRA4 ou ROP2 protein combined with alum or the *gra4* gene provides partial protection in chronic murine models of toxoplasmosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Califórnia, v. 11, n. 4, p. 704-710, 2004.

MATHEUS-PINILLA, N.E.; DUBEY, J.P.; CHOROMANSKI, L.; WEIGEL, R.M. A field of the ineffectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 85, n. 5, p. 855-860, 1999.

MATOS, M.P.C.; SOBESTIANSKY, J.; GAMBARINI, M.L.; CAIADO, K.L.. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, Ano 19, n. 109, p. 9-11, 1999.

MATUKUMA, C.A.; RICHTZENHAIM, W.M. Testes sorológicos na clínica de pequenos animais. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 8, p. 20-23, 1997.

MEIRELES, L.R. **Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo**. 2001. 141p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2001.

MEIRELES, M.V.; PAULILLO, A.C.; COSTA, A.J.da; MORAES, F.R.; ÁVILA, F.A.de; SILVA, G.S. da. Correlação entre *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium baileyi* em frangos de corte experimentalmente infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 4, p. 105-112, 1995.

MENDONÇA, A. de O.; CERQUEIRA, E.J.L.; ARAÚJO, W.N. do; MORAES-SILVA, E.; SHIMABUKURU, F.H.; SARKIS, D.T.; SHERLOCK, I.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, p. 115-118, 2001.

MILLAR, P.R.; DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T.da.; SOBREIRO, L.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 28, p. 15-18, 2008.

MISHIMA, M.; XUAN, X.; SHIODA, A.; OMATA, Y.; FUJISAKO, K.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T. Modified protection against *Toxoplasma gondii* lethal

infection and brain cyst formation by vaccination with SAG2 and SRS1. **The Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 63, p. 433-438, 2001.

MISHIMA, M.; XUAN, X.; YOKOYAMA, N.; IGARASHI, I.; FUJISAKI, K.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T. Recombinant feline herpesvirus type expressing *Toxoplasma gondii* ROP2 antigen inducible protective immunity in cats. **Parasitology Research**, Berlin, v. 88, n. 2, p. 144-149, 2004.

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

MORENO A.M., LINHARES G.F.C., SOBESTIANSKY J., MATOS M.P.C. & BARCELLOS D. **Doenças em Suínos**. In: Sobestiansky, J. & Barcellos, D. (Eds) 1Ed. Goiânia: Cânone, 2007, 770p.

MORRIS, J.G. Food safety symposium: The safety of foods of animal origin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 209, n. 12, p. 2045-2047, 1996.

MOURA, A.B. de; 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. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 16, p. 54-56, 2007.

MUNDAY, B.L.; MASON, R.W. Toxoplasmosis as a cause of perinatal death in goats. **Australian Veterinary Journal**, Austrália, v. 55, p. 485-487, 1979.

NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L. & PASSOS, J.do. *Toxoplasma gondii*: animais envolvidos em surto de toxoplasmose humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 516, 1994.

NAVARRO I.T., LISBOA J.A.N., REICHMANN P., FREIRE R.L., CONTENTE A.P.A., MARANA E.R.M., PRADO J.P., PRUDENCIO L.B. & TSUTSUI V.S. Estudo soropidemiológico de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos atendidos no hospital veterinário da Universidade estadual de Londrina-PR. In: XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária (Rio de Janeiro, Brasil). **Anias do XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, p.89, 2002.

NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em lingüiça de suínos. **Boletim da Oficina Sanitária Panamericana**, Washington, v. 112, p. 138-143, 1992.

NAVES, C.S.; FERREIRA, F.A.; CARVALHO, F. de S.R.; COSTA, G.H.N. Soroprevalência da toxoplasmose em eqüinos da raça Mangalarga Marchador no Município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 11, p. 45-52, 2005.

NEVES, D.P. **Parasitologia dinâmica**. São Paulo: Atheneu, 2003, Capítulo 25, p.177-188.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infectio a corps de Leishmania (ou du organismes voisins) du gondi. **LeComptes Rendus de l'Académie dès Sciences**, Paris, v. 147, p. 763-766, 1908.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une protozoaire nouveau du gondii, *Toxoplasma*. **Archives de l'Institut Pasteur Tunis**, Paris, v. 2, p. 216-218, 1909.

NIELSEN, H.V.; INNES, E.A.; PETERSEN, E.; BUXTON, D. Strategies for development of vaccine against *Toxoplasma gondii*. In: THOMAS, P.A.; PETERSEN, E. (eds.) **Congenital toxoplasmosis**. Springer, Berlin Heidelberg New York. 2000, p. 314-322.

NIELSEN, H.V.; LAUEMOLLER, S.L.; CHRISTIANSEN, L.; BUUS, S.; FOMSGAARD, A.; PETERSEN, E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. **Infection and Immunity**, Washington, v. 67, n. 12, p. 6358-6363, 1999.

OGAWA, L.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O. GONDIM, L.F.P.; NAVARRO, I.T. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros da região norte do Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, p. 312-316, 2005.

OGAWA, L.; NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L.; OLIVEIRA, R.C. de.; VIDOTTO, O. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, p. 57-62, 2003.

OLIVEIRA-LIMA, J.G.; MINEO, J.R.; SNATOS, A.A.D.; FERREIRA, G.L.S.; FERRO, E.A.V.; & OLIVEIRA, C.A. Improved methodsfor examinationof *Toxoplasma gondii* cytoskeleton at ultrastuctural level. **Parasitology Research**, Berlim, v.87, n. 4, p. 287-293, 2001.

OLIVEIRA, L.L. dos S.; SPAGNOL, F.H.; MEDEIROS, S.M. de; LOPES, C.W.G.; ALBUQUERQUE, G.R. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos no matadouro municipal de Itabuna, Bahia. 11º. Seminário de Iniciação Científica da UESC, Anais, p. 125-126, 2005.

OLIVEIRA SEQUEIRA, T.C.L. AMARANTE, A.F.T.; SALATA, E.; SOGAYAR, R. Serological survey for *Toxoplasma gondii* infectionin sheep in São Paulo State, Brazil. **Vet. e Zoot.**, São Paulo, n. 5, p. 121-125, 1993.

OMATA Y.; AIHARA Y.; KANDA M.; SAITO A.; IGARASHI I.; SUZUKI N. *Toxoplasma gondii*: experimental infection in cats vaccinated with ⁶⁰Co-irradiated tachyzoites. **Veterinary Parasitology**, v.65, n.3, p. 173-183, 1996.

PAIVA, F.P. de; MAFFILI, V.V.; SANTOS, A.C.S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo ruz (FIOCRUZ). Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Bahia, Maio 2005. 28p. Disponível em: www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio_apostilha.pdf.

PARMLEY, S.; SLIFER, T. & ARAUJO, F. Protective effects of immunization with a recombinant cyst antigen in mouse models of infection with *Toxoplasma gondii* TISSUE CISTS. **The Journal of Infections Diseases**, Chicago, v. 185, supl. 1, p. S90-95, 2002.

PASSOS, J.do N.; BONAMETTI, A.M.; PASSOS, E.M. Relato de um caso de toxoplasmose aguda com provável transmissão através do aleitamento materno. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 516, 1994.

PASSOS, L.M.F.; LIMA, J.D.; FIGUEIREDO, B.L. Determinação da infecção por *Toxoplasma gondii* em bovinos e suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais através da frequência de anticorpos e tentativa de isolamento a partir de músculos de bovino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19, Belém, 1984, **Anais**, Belém, Pará, p. 337, 1984.

PAULINO, J.P.; VITOR, R.W. Experimental congenital toxoplasmosis in Wistar and Holtzman rats. **Parasite**, Paris, v. 6, p. 63-66, 1999.

PAVESIO, C.E.; CHIAPPINO, M.L.; GORMLEY, P.; SETZER, P.Y.; NICHOLS, B.A. Acquired retinochoroiditis in hamsters inoculated with ME49 strain *Toxoplasma*. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, Stanford, v. 36, p. 2166-2175, 1995.

PAVESIO, C.E.; LIGHTMAN, S. *Toxoplasma gondii* and ocular toxoplasmosis: pathogenesis. **British Journal of Ophthalmology**, Stanford, v. 80, n. 12, p. 1099-1107, 1996.

PEREIRA, I.C. **Soroprevalência de anticorpo para *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS**. 2005. 99p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pelotas. Pelotas – RS. 2005

PETTERSEN, E.K. Resistence to avirulent *Toxoplasma gondii* in normal and vaccinated rats. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 96, p. 820-824, 1988.

PEZERICO, G.P.; PEZERICO, S.B. ; SILVA, R.C.; HOFFMANN, J.L.; CAMARGO, L.B. ; LANGONI, H. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira spp.* em suínos abatidos em três abatedouros dos estados de Minas Gerais e São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, p. 267-270, 2007.

PINCKNEY, R.D.; LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; BOOSINGER, T.R.; McLAUGHLIN, S.A.; DUBEY, J.P. Evaluation of the safety and efficacy of vaccination of nursing pigs with living tachyzoites of two strain of *Toxoplasma gondii*. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 80, n. 3, p. 438-448, 1994.

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

REMINGTON, J.S.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: REMINGTON, J.S.; KLEIN, J.O. (Eds.) **Infectious Diseases of the fetus and Newborn Infants**. W.Saunders Co., Philadelphia p 89-195, 1990.

REMINGTON, J.S.; JACOBS, L.; MELTON, M.; L. Congenital transmission of toxoplasmosis from mother animals with acute and chronic infections. **The Journal of Infection Diseases**, Chicago, n. 108, p. 163-173, 1961.

RENOLD, C.; SUGAR, A.; CHAVE, J.P. Toxoplasma encephalitis. **Medicine**, Baltimore, v.7, p. 224-238, 1992.

RIVERA, E.A.B.; AMARAL, M.H.; NASCIMENTO, V.P.do.; **Ética e bioética aplicadas à Medicina Veterinária**. Goiânia. 2006, 299p.

ROBERTS, C.W. ALEXANDER, J. Studies on a murine model of congenital toxoplasmosis: vertical disease transmission only occurs in Balb/c mice infected for the first time during pregnancy. **Parasitology**, Cambridge, v.104, p. 19-23, 1992.

ROBERTS, C.W.; BREWER, J.M.; ALEXANDER, J. Congenital Toxoplasmosis in the BALB/c mouse: prevention of vertical disease transmission and fetal death by vaccination. **Vaccine**, Guildford, v. 12, n. 15, p. 1389-1394, 1994.

RHODEN, C.R.; MACHADO, A.; VASQUES, M.L.; RHODEN, E.L. Iniciando o contato com o laboratório e com os animais. In: RHODEN, E.L. & RHODEN, C.R. **Princípios e Técnicas em Experimentação animal**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1ª. edição, 2006a, p. 23- 28.

RHODEN, C.R.; MASLINKIEWICZ, A.; PEREIRA, M.S.M.; RHODEN, E.L. Eutanásia em animais de laboratório. In: RHODEN, E.L. & RHODEN, C.R. **Princípios e Técnicas em Experimentação animal**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1ª. edição, 2006b, p. 55-58.

ROSA, C. LANGONI, H.; SILVA, A.V. da.; MARINHO, M. LISTONI, F.J.P. Levantamento de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de ovinos no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.6, n. 2, p. 334, 1997.

ROMANELLI, P.P.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E.R.M.; OGAWA, L.; DE PAULA, V.S.O.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Prevalência of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, Amsterdam, v. 82, p. 202-207, 2007.

RUCHMAN, I.; FOWLER, J.C. Localization and persistence of toxoplasma in tissues of experimentally infected white rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, Nova York, v. 76, n. 4, p. 793-796, 1951.

SANTOS, S.M.; AMARAL, V. do. ; REBOUÇAS, M.M. Prevalência de anticorpos antitoxoplasma, por hemaglutinação indireta, em soros de suínos provenientes de diferentes municípios do estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo, n. XLIV, p. 149-153, 1978.

SCHENK, M.A.M.; LIMA, J.D. & VIANA, F.C. Frequência e isolamento de *Toxoplasma gondii* em suínos do Estado de Minas Gerais. **Arquivos da Escola Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 28, n. 3, p. 261-266, 1976.

SCHOONDERMARK-Van de Ven E.; GALAMA, J.; CAMPS, W.; VREE, T.; MEUWISSEN, J. & MELCHERS, W. Pharmacokinetics of spiramycin in the rhesus monkeys: transplacental passage and distribution in tissue in the fetus. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v.38, p. 1922-1929, 1994a.

SCHOONDERMARK-Van de Ven E.; GALAMA, J.; VREE, T.; CAMPS, W.; BAARS, I.; ESKES, T.; MEUWISSEN, J. & MELCHERS, W. Study of treatment of congenital *Toxoplasma gondii* infection in rhesus monkeys with pyrimethamine and sulfadiazine. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 39, p. 137-144, 1995.

SCHOONDERMARK-Van de Ven E.; MELCHERS, W.; GALAMA, J.; CAMPS, W.; ESKES, T.; & MEUWISSEN, J. Congenital toxoplasmosis: an experimental study in rhesus monkeys for transmission and prenatal diagnosis. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 200-211, 1993.

SCHOONDERMARK-Van de Ven E.; MELCHERS, W.; CAMPS, W.; ESKES, T.; & GALAMA, J. Effectiveness of spiramycin for the treatment of congenital *Toxoplasma gondii* infection in rhesus monkey. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 38, p. 1930-1936. 1994b

SCHOONDERMARK-Van de Ven E.M. Prenatal diagnosis and treatment of congenital *Toxoplasma gondii* infections: an experimental study in rhesus monkeys. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 74, n. 2, p. 183-188, 1997.

SCHWARTZMAN, J.D.; PFEFFERKORN, E.R. Pyrimidine synthesis by intracellular *Toxoplasma gondii*. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 67, n.2, p. 150-158, 1981.

SEPÚLVEDA, J.C. The rat modelo f toxoplasmosis: study of humoral and cellular immune responses and their role in the control of the invecton. Thesis. Faculty of Health, Universidad del Valle, Colombia, 167p., 2003.

SEVÁ, A. da P.; SILVA, R.C. da; SILVA, A.V. da; CASTRO, A.P.B.de; MENOZZI, B.D.; LANGONI, H. Avaliação da virulência de cepas de *Toxoplasma gondii*, em camundongos, isoladas de cães com sinais neurológicos, em Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v.13, n.1; p. 33-43, 2006.

SILVA, A.V.; LANGONI, H. The detection of *Toxoplasma gondii* by comparing cytology, histopathology, bioassay in mice and the polymerase chain reaction (PCR). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 97, p. 191-198, 2001.

SILVA, A.V.; CUNHA, E.L.P.; MEIRELES, L.R.; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R.A.; LANGONI, H. Sheep and goat toxoplasmosis: seroepidemiological study in two

regions in the State of Pernambuco, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.1, p.115-119, 2003.

SILVA, A.V.; CUTOLO, A.A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, p. 7-11, 2002.

SILVA, A.V.; MENDONÇA, A.O.; PEZERICO, S.B.; DOMINGUES, P.F.; LANGONI, H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains detected in pork sausage. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 60, p. 65 - 68, 2005.

SILVA, K.L.M. de V.; RUE, M.L.de la. Possibilidade de transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* em ovinos através de seguimento sorológico no município de Rosário do Sul, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 892-897, 2006.

SILVA, N.R.S.; COSTA, A.J.; SOUZA, S.M.G. de. Prevalência de anticorpos antitoxoplásmicos em ovinos, determinada pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), no município de São Lourenço do Sul, RS. **Arquivos da Faculdade Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 8, p. 89-92, 1980.

SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; MENDEZ, L.D.V.; ARAÚJO, F.A.P. Determinação de anticorpos toxoplásmicos em soros de suínos obtidos em matadouros, na região do Alto Taquarí, RS, Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 9, p. 33-38, 1981b.

SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; ARAUJO, F.A.P.; PEREIRA, R.A.P. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de eqüinos no município de Porto Alegre, RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 9, p. 105-107, 1981a.

SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; ARAUJO, F.A.P.; MENDEZ, L.D.V. Frequência de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em soros de bovinos de leite da Grande Porto Alegre, RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 10-11, p. 81-84, 1982/83.

SILVA, N.R.S.; COSTA, A.J.; CHAPLIN, E.L.; SOUZA, S.M.G. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de ovinos, pela reação de imunofluorescência indireta (IFI), na região de Guaíba, RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v 9, p. 101-104, 1981c.

SILVEIRA, C. Toxoplasmose – Levantamento bibliográfico de 1997-2000. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v.64, n.3, p. 263-270, 2001.

SIMITCH T, PETROVITCH ZL, BORDJOCHKI A, TOMANOVIC B, SAVIN Z. Essais de prémunition contre la Toxoplasmose du hamster. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, Paris, v. 136, p. 1019-1022, 1960.

SOUZA, L.M.de; NASCIMENTO, A.A.do; FURUTA, P.I.; BASSO, L.M.S.; SILVEIRA, D.M.da.; COSTA, A.J. da. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.22, n.1., p. 39-48, 2001a

SOUZA, W.J.S. **Epidemiologia da toxoplasmose: avaliação sorológica de suínos e trabalhadores em abatedouros na mesorregião do Grande Rio de Janeiro**. 1995. 125p. Tese (Doutorado). Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – RJ. 1995.

SPLENDRE, A. Um nuovo protozoo parassita de' conigli – incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti il kala-azar dell'uomo. **Revista da Sociedade de Científica**, São Paulo, v. 3, p. 109-112, 1908.

SPÓSITO FILHA, E.; AMARAL, V.do; MACRUZ, R.; REBOUÇAS, M.M.; SANTOS, S.M.; DRUMOND, L.S. *Toxoplasma gondii* em ovinos: isolamento do parasita a partir de diafragmas de animais procedentes do Estado do Rio Grande do Sul e abatidos em matadouros de São Paulo, para consumo humano. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 1, n.2, p.117-119, 1992.

SUZUKI, Y., CONLEY, F.K. & REMINGTON, J.S. Importance of endogenous IFN- γ for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 143: 2045-2050, 1989.

SWANGO, L.J.; BANKEMPER, K.W.; KONG, L.I. Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais, e outras. IN: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, 3ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1992, 2557p.

TABOADA, J.; MERCHANT, S.R. Infecção por protozoários e por outras causas. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4ª. ed. São Paulo: Manole Ltda., v.1, 1997. 1495p.

TARABLA, H. **Epidemiología diagnóstica**. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé (Argentina) p. 37-53, 2000.

TAWEENAN, W. **Vaccination against toxoplasmosis: immune responses in mice immunised with a recombinant *Toxoplasma gondii* antigen**. Upsala- Suécia. 42p. Dissertação (Mestrado). Faculty of Veterinary Medicina, Swedish University of Agricultural Sciences. 2004.

THIERMANN, E. Transmisión congénita del *Toxoplasma gondii* en ratas con infección leve. **Biologica**, Santiago, v. 23, p. 59-67, 1957.

THOUVENIN, M.; CANDOLFI, E.; VILLARD, O.; KLEIN, J.P.; KIEN, T. Immune response in a murine model of congenital toxoplasmosis increased susceptibility of pregnant mice and transplacental passage of *Toxoplasma gondii* are Type-2 dependent. **Parassitologia**, Roma, v. 39, p.279-283, 1997.

TSUTSUI, V.S.; PRUDENCIO, L.B.; CONTENTE, A.P.A.; FREIRE, R.L.; NAVARRO, I.T.; MARANA, E.R.M.; DELBEM, A.C.B.; STELLATTO, R.A. Estudo soropidemiológico e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em

granjas de suínos do norte do Estado do Paraná. **Jornal Brasileiro de Patologia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 255, n. 827, 2001.

UENO, T.E.H. **Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil**. 2005. 107p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental e aplicada as zoonoses) - Programa de Pós-graduação Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2005

UKHOV, Y.I.; SHEVKUNOVA, E.A. The pathomorphology of acute experimental toxoplasmosis produced by infection in various ways. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, Nova York, v. 58, n. 1, p. 861-864, 1964.

ULON, S.N. **Inquérito sorológico de infecção toxoplásmica em ovinos abatidos em Santa Maria, RS, e sua repercussão na saúde pública**. 1996. 78p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria -RS. 1996.

UZÊDA, R.S.; FERNÁNDEZ, S.Y.; JESUS, E.E.V.; PINHEIRO, A.M.; AYRES, M.C.C.; SPINOLA, S.; BARBOSA JUNIOR, H.V; ALMEIDA, M.A.O. Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado de Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.5, n.1, p.1-8, 2004.

VASCONCELOS, O.T.; COSTA, A.J.; ÁVILA, F.A. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos. **Científica**, Jaboticabal, v. 7, p. 83-87, 1979.

VASQUES, M.L.M.; MACHADO, A.; RHODEN, C.R. Coleta e preparação de líquidos biológicos para iferentes dosagens bioquímicas em animais de experimentação. In: RHODEN, E.L. & RHODEN, C.R. **Princípios e Técnicas em Experimentação animal**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1ª. edição, 2006, p.29-33.

VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; LARA, M.C.C.S.H.; SOARES, R.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüídeos oriundos de propriedades da região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo e abatidos em matadouro no Estado do Paraná. In: 18ª Reunião anual do Instituto Biológico, São Paulo, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, 2005.

VIDOTTO O., KANO F.S., FREIRE R.L., MITISUKA R., OGAWA L., BONESI G., NAVARRO I.T. & FRANCISCON F.S.G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos procedentes de 4 estados (SP, PR, MS, MT) abatidos em Apucarana no Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina,. v. 18, p. 9-13, 1997.

VIDOTTO, O.; NAVARRO, O.; MOCO, C.A.; PINCELLI, C.A.; NISHIMURA, M.F.C. Prevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos em matadouros no Norte do Paraná. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 2, Londrina. **Anais**, p. 23, Londrina, 1986.

VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R.; FREIRE, R.L. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina – PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.11, n.1, p. 53-59, 1990.

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

WEINER, H.L. Oral tolerance: immune mechanisms and the generation of Th3-type TGF-beta-secreting regulatory cells. **Microbes Infection**, Amsterdam, v, 3, p. 947-954, 2001.

WEINER, H.L.; REES, E.P. Mucosal Tolerance, **Immunology Letters**, Amsterdam, v. 69, p. 3-4, 1999.

WENTZ, I.; SOBESTIANSKY, J.; CHAPLIN, E. Prevalência de anticorpos para toxoplasmose em soros de suínos de pedigree em Santa Catarina.: **Embrapa**, Concórdia, Comunicado Técnico, n. 130, 1988, 3p.

WILKINS, M.F.; O'CONNELL, E.; TE PUNGA, W.A. Toxoplasmosis in sheep III. Further evaluation of the ability of a live *Toxoplasma gondii* vaccine to prevent lamb losses and reduce congenital infection following experimental oral challenge. **The New Zealand and Veterinary Journal**, Palmerston North, n. 36, p. 86-89, 1988.

WONG MM, KOZEK WJ, KARR SL JR, BRAYTON MA, THEIS JH, HENDRICKX AG. Experimental congenital infection of *Toxoplasma gondii* in *Macaca arctoides*. **Asian Journal of Infection Diseases**, Singapura, v. 3, n. 2, p. 61-7, 1979.

ZENNER, L.; DARCY, F.; CAPRON, A.; CESBRON-DELAUW, M.F. *Toxoplasma gondii*: kinetics of the dissemination in the host tissues during the acute phases of infection of mice and rats. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 90, p. 86-94, 1998.

ZENNER, L.; DARCY, F.; CESBRON-DELAUW, M.F.; CAPRON, A. Rat Model of Congenital Toxoplasmosis: Rate of Transmission of Three *Toxoplasma gondii* Strain to Fetuses and Protective Effect of a Chronic Infection. **Infection and Immunity**, Washington, v. 61, n. 1, p. 360-363, 1993.

ZENNER, L.; ESTAQUIER, J.; DARCY, F.; MAES, P.; CAPRON, A.; CESBRON-DELAUW, M.F. Protective immunity in the rat model of congenital toxoplasmosis and the potencial of excreted-secreted antigens as vaccine components. **Parasite Immunology**, Oxford, v.21, p. 261-277, 1999.

ZONTA, J.C.; ARAUJO, F.A.P.; STOBBE, N.S.; CHAPLIN, E.L; SILVA, N.R.S. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em ovinos de Marau e de Uruguaiana, RS. **Arquivos da Faculdade Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 15/16, p. 59-61, 1987.

Toxoplasma gondii: CONGENITAL TRANSMISSION IN A HAMSTER MODEL .

Freyre, A. ^(1,*), **Fialho, C.G.** ⁽²⁾, **Bigatti, L.E.** ⁽²⁾, **Araujo, F.A.P.** ⁽²⁾, **Falcón, J.D.** ⁽¹⁾,
Mendez, J. ⁽³⁾, **González, M** ⁽³⁾

ABSTRACT

The objective of the research was to test the hamster for a model of transmission of congenital toxoplasmosis. A non invasive method for the diagnosis of pregnancy in hamsters was designed, with a specificity and a sensitivity of 70.2 and 94.7%, respectively (n=168). Of 32 females with a chronic toxoplasma infection, 3 transmitted *Toxoplasma* congenitally during their first pregnancy, but not during the subsequent pregnancy. Congenital transmission rates of infections initiated during pregnancy with 2 stages of 2 strains of *Toxoplasma* were in the range of 33 to 100% of the 76 females inoculated . Only 1 of 17 females transmitted the parasite exclusively via milk. It was concluded that the hamster is a promising species for a model of transmission of congenital toxoplasmosis.

⁽¹⁾ Laboratorio de Toxoplasmosis, Departamento de Parasitología, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

⁽²⁾ Laboratorio de Protozoología, Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

⁽³⁾ Laboratorio de Parasitología, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay.

(*) Corresponding autor. Fax: +598 2 628 01 30.

E-mail address: freymrealvaro@hotmail.com (A. Freyre).

1. INTRODUCTION

Toxoplasmosis can cause fetal damage in humans and abortion in sheep, goats, pigs, and rabbits if first contracted during pregnancy (Dubey and Beattie 1988; Freyre and Falcón, 1989; Remington and Desmonts 1990). The incidence of congenital human toxoplasmosis has been shown to be 1-6/1,000 births. Although most infected newborns are asymptomatic at birth, adverse sequelae may develop later in life in a large proportion of the affected patients (Remington and Desmonts 1990). In addition, reactivation of a latent *T. gondii* infection from tissue cysts in the brain, is often fatal in patients who become immunosuppressed as a result of developing acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), during cancer therapy or after organ transplantation (Luft and Hafner 1990).

Of the several approaches that can be used to prevent toxoplasmosis in animals and humans, considerable experimental effort has been put into developing protection for animals by vaccination (Nielsen et al 2000). The rat has been one of the species of choice for a model of congenital toxoplasmosis, on account of the similarity of its resistance to toxoplasmosis, with that of humans. (Dubey and Shen, 1991; Dubey and Frenkel, 1998; Freyre, 1999; Freyre et al, 2001,2003,2006b; Paulino and Vitor, 1999; Zenner et al, 1993,1999). It is important however to have available more than one model to test immunogens, since it has been repeatedly found that different animal species have divergent immune responses to the same immunogen (Gupta and Siber, 1995). In this respect, other species have also been tested for the purpose, notably the BALB/c mouse (Abou-Bacar et al, 2004; Elsaid et al, 2001; Freyre et al., 2006 a; Letscher-Bru et al, 2003; McLeod et al, 1988; Roberts and Alexander, 1992; Roberts, Brewer and Alexander, 1994; Thouvenin et al, 1997).

The hamster has been used for several experimental models of toxoplasmosis: toxoplasma retinochoroiditis (Pavesio et al.,1995; Gormley et al.,1998, 1999; dissemination of *Toxoplasma* through the bloodstream (Chinchilla et al.,1993); immunosuppression and toxoplasma encephalitis (Frenkel et al.,1975); cross-immunity among toxoplasma strains (Simitch et al.,1960; De Roever Bonnet , 1963, 1964);

vaccination with the mutant ts-4 strain of *Toxoplasma* (Elwell and Frenkel, 1984a, b); testing of drugs against *Toxoplasma* (Gangjee et al., 2003); testing the effect of corticosteroids on immunity against *Toxoplasma* (Lindberg and Frenkel, 1977), as well as for pioneer research on specific immunity , non specific resistance and cross-immunity against acquired toxoplasmosis (Elwell, 1974; Frenkel and Caldwell, 1975; Reyes and Frenkel, 1987).

Nevertheless, there are only two investigations on experimental congenital toxoplasmosis in hamsters. Congenital transmission of *Toxoplasma* during the chronic stage of the infection in hamsters was ascertained in one study (De Roever-Bonnet, 1960). In another study, limited protection of the mutant ts-4 strain of *Toxoplasma* against challenge during pregnancy in hamsters, was assessed (Frenkel et al ., 1986). The low rate of protection obtained in this study, could be explained by the use of an excessively high dose of *Toxoplasma* for challenge.

The goal of the present research was to investigate de feasibility of the hamster model to study transmission against congenital toxoplasmosis. The objectives were:

1. To investigate if the weight increase due to the fetal and placental development could be the basis for a method for the diagnosis of pregnancy in the hamster. The experimental design of Experiment No.1 was as follows: female and male hamsters (4 females to 1 male) were placed in the same cage. Then, starting on day 9 after caging and every other day, females were weighed, until a steady body weight increase of 8 g or greater in total, was ascertained. This increase was taken as an indication of pregnancy. The body weight increase and the date of parturition or its absence were recorded. The method was used with a total of 168 females, comprising 20 females that were not placed with the males and were nevertheless weighed . The method of Tarabla (2000) was used to calculate the specificity and the sensitivity of the method of diagnosis of pregnancy. Other methods, such as the inspection for abdominal dilatation, and the detection of spermatozoa in daily vaginal smears, were also tested.
2. To test congenital transmission of *Toxoplasma* during the chronic stage of the infection. When prototype immunizations (= with live *Toxoplasma*) previous to pregnancy are

tested, it is essential that the parasite does not cross the placental barrier later during pregnancy; otherwise parasites originated from immunization and from challenge inoculation performed during pregnancy, could not be easily differentiated. Congenital transmission during the chronic stage of a toxoplasma infection was tested in Experiment No.2: Twenty-two female hamsters received 200 cysts of strain Me-49 of *Toxoplasma* by mouth. Another 10 females received 40 Me-49 oocysts by mouth. After 60 days, they were placed with the males in the same cage, in a relation of 4:1 of females to males. Newborns were bioassayed in mice. Seropositive mice after 25 days, were considered as an indication of congenital transmission of *Toxoplasma*. After the first delivery, females were caged with the males again, and the experimental design was repeated.

3. To test congenital and lactogenic transmission of *Toxoplasma* during the acute stage of the infection. For a useful model, the rate of congenital transmission should be 50% or higher, to be able to work with experimental groups with practical numbers of animals ,i.e., 10-20 hamsters. Also, lactogenic transmission of toxoplasmosis should not occur in the absence of congenital transmission, otherwise it could be misinterpreted as congenital transmission. In Experiment No.3, 78 female hamsters were caged with a male (4:1). At approximately 12 days of pregnancy, they were inoculated by gavage with 10^3 or 10^4 bradyzoites, with 10^2 or 10^4 oocysts of strains Prugniaud and M7741 respectively, and with 10^3 oocysts of strain M3 of *Toxoplasma*, and placed individually in parturition cages. Newborn hamsters were bioassayed immediately after birth (table No. 1). In Experiment No.4, to test lactogenic transmission, hamsters born to mothers inoculated with *Toxoplasma* (10^2 or 10^3 Prugniaud oocysts, 10^2 M7741 oocysts, and 10^4 Prugniaud and M7741 bradyzoites) were bioassayed and replaced by newborn hamsters of a non inoculated mother. Fostered hamsters were bioassayed for *Toxoplasma* 3 days later (table No.2).

2. MATERIALS

2.1. Animals

Hamsters (*Mesocricetus auratus*) weighing in the region of 80 g, were obtained from local breeders. CF-1 mice weighing around 20 g were sourced from Charles River Laboratories, Boston, Ma., and were used for chronic infections with *Toxoplasma* to provide brain cysts and for bioassays. European breed cats were from the breeding colony of the Laboratory for Toxoplasmosis. Hamsters, mice and cats were judged to be seronegative for *T. gondii* by the direct agglutination (DA) test for toxoplasmosis of Desmonts and Remington (1980), using 1/64 as the threshold titer indicative of toxoplasma infection. The same test was used to look for toxoplasma seropositivity in mice inoculated with tissues of newborn hamsters.

2.2. Toxoplasma.

Strain Me-49 was used to establish a chronic infection, since it is a complete strain (=cyst and oocyst forming) . We have used and characterized this strain in previous experiments (Freyre et al., 2006 a). Many other strains could have been chosen for the same purpose.

The strains Prugniaud, M7741 and M3 of *Toxoplasma* were used for congenital transmission during the acute stage of the infection. The strain Prugniaud was chosen because the authors (Freyre et al, 2001, 2003) as well as others (Zenner et al, 1993, 1999) had already tested it in experiments on congenital toxoplasmosis in the rat and in BALB/c mice (Freyre et al, 2006a). Strains M7741 and M3 were chosen because they are a rapidly multiplying strains, and so, they might have more chances to reach the hamster placenta and fetus in infections initiated with oocysts, before parturition occurs. These toxoplasma strains were characterized as described (Freyre et al, 2001, 2003). Strains M3 and Prugniaud belong to genotype 2, and strain M7741 to genotype 3 (Howe and Sibley, 1995).

Brain cysts were obtained as described (Freyre et al, 2001). Brains were homogenized in PBS pH 7.2 in a hypodermic syringe by passing the emulsion 12 times through a 19 gauge needle. Equal parts of the emulsion and of digestive fluid (Freyre, 1995) were incubated for 5 min at 37°C. Then the mixture was neutralized with 1% Na₂CO₃, centrifuged at 2000 rpm for 15 min, and the supernatant replaced by PBS pH 7.2 with

0.6% bovine albumin. A 1/10 dilution of the mixture was made in the preceding solution, and bradyzoites were counted in a hemocytometer.

Toxoplasma oocysts were obtained and sporulated as described (Freyre et al, 2003). The oocysts were then counted in a hemocytometer. They were titrated in mice, to assure that the dose administered to hamsters was calculated on a basis of live oocysts. Hamsters were inoculated by gavage with suspensions of oocysts, neutralized with 3.3% NaOH.

2.3. Timing of conception

After having performed Experiment No. 1, it was found that the method of the measurement of the body weight was adequate to diagnosticate pregnancy, and so it was used throughout the experiments in the present work.

2.4. Bioassay.

Newborn hamsters were rinsed with distilled water and killed by cervical dislocation. Newborns from the same litter were blended altogether in a laboratory blender with 0.85% NaCl in distilled water with 1,000 I.U. penicillin and 0.1 mg streptomycin per ml. The homogenate was intraperitoneally inoculated in mice. Mice were bled 30 days later and their sera examined for specific antibodies with the DA reaction.

2.5. Statistical analysis

To detect any association between congenital transmission rates in hamsters and the toxoplasma strains used, the exact Fisher test was used, at $\alpha = 0.05$.

The experiments here performed comply with current laws of Uruguay and Brazil.

3. RESULTS

3.1. Experiment No 1: Diagnosis and timing of pregnancy

One hundred and sixty eight hamsters were studied. Of 128 hamsters with a diagnosis of pregnancy, 107 delivered. Of 40 hamsters with a negative diagnosis, 6 delivered. According to the method of Tarabla (2000) and considering the figures mentioned, the specificity and sensitivity of the method were 70.2 and 94.7 %, respectively.

The mean body weight of the female hamsters at the start of the experiment, was 84.44 g, with a range of 52 to 116 g; the mean body weight increase due to the fetal and placental development at the time the diagnosis of pregnancy was made, was 21.5 g, with a range of 8 to 42 g, and the mean number of days of pregnancy when challenged, was 8.5 , with a range of 6 to 13 days.

Inspection for abdominal dilatation did not allow timely detection of pregnancy . The method of detection of spermatozoa in daily vaginal smears was soon abandoned, due to insufficient correlation with pregnancy.

3.2. Experiment No. 2: Congenital transmission of *Toxoplasma* during the chronic stage of the infection during the first and the second pregnancies.

Of 32 females in this experiment, 3 that had been infected with 200 cysts, transmitted *Toxoplasma* congenitally, during their first pregnancy. None of them transmitted the parasite congenitally during their second pregnancy.

3.3. Experiment No. 3 : Congenital transmission during the acute stage of toxoplasmosis.

Congenital transmission occurred in 2 of 6 (2/6) and 2/8 hamsters inoculated with 10^3 bradyzoites of the strains Prugnaiud y M7741, and in 8/13 and 3/12 hamsters inoculated with 10^4 bradyzoites of the same strains, respectively (table No.1). Transmission also occurred in 10/13 and in 6/10 hamsters inoculated with 10^2 oocysts

of strains Prugniaud and M7741 respectively, and in 6/10 and in 6/6 hamsters inoculated with 10^3 oocysts M3 and with 10^4 oocysts Prugniaud, respectively (table No. 1). The dosing of hamsters with 10^4 oocysts of strain M7741 elicited an infection that killed the hamsters before they delivered, and so this trial was abandoned. There were not differences statistically significant among the frequencies of transmission observed in every group.

3.4. Experiment No. 4: Congenital and lactogenic transmission.

Of 17 female hamsters simultaneously studied for congenital and lactogenic transmission, 8 transmitted *Toxoplasma* via milk (3 of 8 inoculated with 10^2 Prugniaud oocysts, 2 of 5 inoculated with 10^3 Prugniaud oocysts, and all of 3 hamsters inoculated with bradyzoites or oocysts M7741). Seven of the 8 females that transmitted the parasite via milk transmitted the parasite also congenitally. Only one female transmitted the parasite via milk but not congenitally (table No. 2).

4. DISCUSSION

The diagnosis of pregnancy (Experiment No. 1)

The timing of the pregnancy of the hamsters was important, to be able to perform challenges timely, in order for *Toxoplasma* to multiply in sufficient numbers to reach the placenta and the fetus before delivery. Ninety four percent sensitivity and 70% specificity of the method for the diagnosis and timing of pregnancy by the body weight measurement were considered sufficient for experiments like the ones performed in the present work. False positive diagnosis could have been due to unaware embryonic resorptions or to the momentary storage of feed in the gutural pouches by the hamsters, thereby apparently increasing the body weight. The method of the body weight measurement is practical and non-invasive, of importance when handling rodents, in contrast to measurement of serum progesterone which requires bleeding (Auletta et al, 1978) and is not available in all laboratories. For these reasons, the method of the body weight measurement was adopted routinely in this laboratory.

Congenital transmission of *Toxoplasma* during the chronic stage of the infection , in the first and second pregnancies after inoculation of the parasite (Experiment No. 2).

Congenital transmission during the chronic stage of toxoplasma infection was not seen in our experiments with the Fischer rat and the BALB/c mouse models (Freyre et al 2001, 2003, 2006a) , or in similar experiments of other investigators (Dubey and Shen, 1991; Dubey and Frenkel, 1998; McLeod and Frenkel, 1988; Paulino and Vitor, 1999; Roberts and Alexander, 1992; Zenner et al, 1993). However, congenital transmission of *Toxoplasma* in the first pregnancy during the chronic stage of the infection in hamsters has been already ascertained (De Roever-Bonnet, 1960). However, it was surprising that congenital transmission during the chronic stage of the infection occurred in the present experiments in the first pregnancy, but was absent in the subsequent pregnancy in the hamster. We lack of an explanation for this phenomenon, but it is beneficial for the hamster model of congenital toxoplasmosis. It means that hamsters can be prototype immunized with live *Toxoplasma* before pregnancy, then females are allowed to conceive and deliver for the first time, and then they are challenged with *Toxoplasma* during the second pregnancy, after which newborns would be bioassayed in mice . In this way, if newborns are positive at bioassay, it can be concluded that the parasite belongs to the challenge inoculum, and not to the chronic infection. Control groups of non challenged immunized females should be kept, to ascertain whether congenital transmission occurs during their second pregnancies.

Congenital transmission during the acute stage of the infection (Experiment No.3)

Congenital transmission of toxoplasma infections originated by precise numbers of bradyzoites or oocysts were tested in the hamster model in the present work. This is considered an advantage as regards the reproducibility of results, since it is known that the number of bradyzoites contained in a cyst ranges from a few hundred to one thousand or more (Motomoura and Jo, 1970). It is also important the use of a threshold challenge dose that enables detection of immunogens of moderate immunogenicity, that could pass inadvertently if heavier challenges were used. In the present study, one thousand brayzoites or one hundred oocysts were the lowest doses shown to originate

infections that were congenitally transmitted, independently of the *Toxoplasma* strain (Tables No. 1 and 2), and so they are the threshold doses, since lower doses would not be precise enough .

In the present study, transmission rates were in the range of 25-33% and 25-61% for infections originated by 10^3 and 10^4 bradyzoites , respectively, and 50-100% for infections originated by 10^2 to 10^4 oocysts, respectively (table No. 1). Transmission rates of 20%, 87% and 83% were achieved in mice with inocula of 20 cysts (approximately 10^4 bradyzoites) (Roberts and Alexander,1992), 2 cysts (approximately 10^3 bradyzoites) (Fux et al., 2000) and 200 cysts (approximately 10^5 bradyzoites) (McLeod et al, 1988), respectively. Therefore, with some exceptions, higher transmission rates are attributable to the use of heavier toxoplasma inocula. In general, the frequency of transmission of congenital toxoplasmosis in hamsters is within the same range as in our experiments with the Fischer rat and the BALB/c mouse models (Freyre et al 2001, 2003, 2006a).

Lactogenic transmission (Experiment No. 4)

Lactogenic transmission was not seen in our experiments with the Fischer rat and the BALB/c mouse models (Freyre et al 2001, 2003, 2006a), or in similar experiments of other investigators (Dubey and Shen, 1991; Dubey and Frenkel, 1998; McLeod et al, 1988; Paulino and Vitor, 1999; Roberts and Alexander, 1992; Zenner et al, 1993).

Only 1 female hamster transmitted the parasite exclusively via milk; 7 more females of a total of 17 inoculated with *Toxoplasma* during pregnancy, transmitted the parasite both congenitally and via milk. The latter situation is not of concern from the point of view of the model, since the newborns that acquired the infection lactogenically were already congenitally infected. Instead, the former situation compromises the model,since a lactogenic transmission could be interpreted as congenital transmission when considering the result of the mouse bioassay. To overcome this inconvenience, the method of the false floor cage, with instantaneous separation of the newborns from their mother, can be used (Freyre et al., 2006a).

In conclusion, as a result of the present investigation, a practical, sensitive and non invasive method for the diagnosis of pregnancy in the hamster was designed and tested;

the limited congenital transmission of *Toxoplasma* from an infection originated before pregnancy was ascertained, as well as the absolute absence of congenital infection in the following pregnancy; the congenital transmission of the parasite using low doses of bradyzoites and oocysts of 2 strains was ascertained; the transmission of *Toxoplasma* exclusively via milk at a very low rate was ascertained, and a method was proposed to overcome the inconvenient. On the basis of the above findings, it is concluded that the hamster is a promising species for the model of investigation of transmission of congenital toxoplasmosis. Future research should focus on testing the ability of the hamster to mount a protective immune response and to maintain it during pregnancy, and on expanding the investigation on the congenital transmission rate of other strains of the parasite, both in infections originated with bradyzoites and with oocysts, so that they can be later used for vaccine challenge.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are given to R. McLeod for reviewing the manuscript and to Luis Lavarello for the statistic analysis.

7. REFERENCES

1. Abou-Bacar, A., Pffaf, A.W., Georges, S., Letscher-Bru, V., Filisetti, D., Villard, O., Antoni, E., Klein, J.P., Candolfi, E., 2004. Role of NK Cells and Gamma Interferon in Transplacental passage of *Toxoplasma gondii* in a Mouse Model of Primary Infection. *Infection and Immunity* 72, 1397-1401.
2. Auletta FJ, Agins J, Scomegna A. (1978). Prostaglandin F mediation of the inhibitory effect of estrogen on the corpus luteum of the rhesus monkey. *Endocrinology* 103, 1183.
3. Chinchilla M, Guerrero OM, Catarinella G, Reyes L. (1993) Natural and induced blood dissemination of *Toxoplasma gondii*: experimental model in white mice and hamsters. *Revista de Biologia Tropical* 41,197-202.
4. De Roever-Bonnet, H. (1960) Congenital *Toxoplasma* infections in mice and hamsters with avirulent strain. *Tropical and geographical Medicine* 21, 443-450.
5. De Roever-Bonnet, H. (1963) Mice and golden hamster infected with an avirulent and a virulent *Toxoplasma* strain. *Tropical and geographical Medicine* 15, 45-60.
6. De Roever-Bonnet, H. (1964) *Toxoplasma* parasites in different organs of mice and hamsters infected with avirulent and virulent strains. *Tropical and geographical Medicine* 4, 337-345.
7. Desmonts G, Remington J J. (1980) Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection. Method for increasing sensitivity and specificity. *Journal of clinical Microbiology* 11, 562-568.

8. Dubey JP, Beattie CP (1988) *Toxoplasmosis of animals and Man*. CRC Press Inc Florida, 220 p.
9. Dubey J P, Shen S K. (1991) Rat Model of Congenital Toxoplasmosis. *Infection and Immunity* 59, 3301-3302.
10. Dubey J P, Frenkel J K. (1998) Toxoplasmosis of rat: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. *Veterinary Parasitology* 77, 1-32.
11. Elsaid M, Martins M, Frézard F, Braga EM, Vitor RWA. (2001) Vertical Toxoplasmosis in a Murine Model. Protection after Immunization with Antigens of *Toxoplasma gondii* Incorporated into Liposomes. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 96, 99-104.
12. Elwell, MR. (1974) The hamster as a model of immunity for toxoplasmosis. Thesis Kansas State University; 147 pp.
13. Elwell MR, Frenkel JK. (1984a) Acute toxoplasmosis in hamsters and mice: Measurement of pathogenicity by fever and weight loss. *American Journal of Veterinary Research* 45, 2663-2667.
14. Elwell MR, Frenkel JK. (1984b) Immunity to toxoplasmosis in hamsters. *American Journal of Veterinary Research* 45, 2668-2674.
15. Frenkel JK, Caldwell SA. (1975) Specific immunity and nonspecific resistance to infection: Listeria, Protozoa, and Viruses in mice and hamsters. *Journal of Infectious Diseases*, 131, 201-209.
16. Frenkel JK, Nelson BM, Arias-Stella J. (1975) Immunosuppression and toxoplasmic encephalitis: clinical and experimental aspects. *Human Pathology* 6, 97-111.
17. Frenkel JK, Freyre A., Smith, DD. (1986) Tests of nonpersistent ts-4 vaccine in mice and hamsters: Appearance of immunity, vaccine persistence, and protection against transplacental infection. Program and Abstracts of the 61st Annual Meeting of the American Society of Parasitologists 55, Abstract Nr. 88, 1986.
18. Freyre A, Falcón J. (1989) Toxoplasmosis en las especies domésticas y como zoonosis. Uruguay Ed. Departamento de Publicaciones de la Universidad 338 pp.
19. Freyre, A. (1995). Separation of *Toxoplasma* cysts from brain tissue and liberation of viable bradyzoites. *The Journal of Parasitology* 81, 1008-1010.
20. Freyre A. (1999) Congenital transmission of experimental chronic toxoplasmosis in rats. *The Journal of Parasitology* 85, 746-748.
21. Freyre A, Falcón J, Correa O, Mendez, J, González M, Venzal J. (2001) Some factors influencing transmission of *Toxoplasma* in pregnant rats fed cysts. *Parasitology Research* 87, 941-944.
22. Freyre A, Falcón J, Méndez J, González M, Venzal J M, Morgades D. (2003) Fetal *Toxoplasma* infection after oocyst inoculation of pregnant rats. *Parasitology Research* 89, 352-353.
23. Freyre A, Falcón J, Méndez J, Rodríguez A, Correa L, González M. (2006 a) Refinement of the mouse model of congenital toxoplasmosis. *Experimental Parasitology* 113, 154-60.
24. Freyre A, Falcón J, Méndez J, González M. (2006 b) *Toxoplasma gondii*: Differential protection rates by two strains against cyst formation in a rat model. *Experimental Parasitology* 114, 265 – 270.
25. Fux, B., Ferreira, A.M., Cassali, G.D., Tafuri, W.L., Vitor, R.W.A., 2000. Experimental Toxoplasmosis in BALB/c Mice. Prevention of Vertical Disease Transmission by Treatment and Reproductive Failure in Chronic Infection. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 95, 121-26.

26. Gangjee A, Adair OO, Queener SF. (2003) Synthesis and biological evaluation of 2,4-diamino-6-(arylaminoethyl)pyrido[2,3-d]pyrimidines as inhibitors of *Pneumocystis carinii* and *Toxoplasma gondii* dihydrofolate reductase and as antiopportunistic infection and antitumor agents. *Journal of Medicinal Chemistry* 46, 5074-82.
27. Gormley PD, Pavesio CE, Minnasian D, Lightman S. (1998) Effects of drug therapy on *Toxoplasma* cysts in an animal model of acute and chronic disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 39, 1171-5.
28. Gormley PD, Pavesio CE, Luthert P, Lightman S. (1999) Retinochoroiditis is induced by oral administration of *Toxoplasma gondii* cysts in the hamster model. *Experimental Eye Research* 68, 657-61.
29. Gupta RK, Siber GR. (1995) Adjuvants for human vaccines-current status, problems and future prospects. *Vaccine* 13, 1263-76.
30. Howe, D.K., Sibley, D., 1995. *Toxoplasma gondii* Comprises three Clonal Lineages: Correlation of Parasite Genotype with Human Disease. *Journal of Infectious Diseases* 172, 1561-6.
31. Letscher-Bru, V., Pffaf, A.W., Abou-Bacar, A., Filisetti, D., Antoni, E., Villard, O., Klein, J.P., Candolfi, E., 2003. Vaccination with *Toxoplasma gondii* SAG-1 Protein Is Protective against Congenital Toxoplasmosis in BALB/c Mice. *Infection and Immunity* 71, 6615-6619.
32. Lindberg RE, Frenkel JK. (1977) Cellular immunity to *Toxoplasma* and *Besnoitia* in hamsters: specificity and the effects of cortisol. *Infection and Immunity* 45, 855-862.
33. Luft, B., Hafner, R., 1990. Toxoplasmic encephalitis. *AIDS* 4, 593-595.
34. McLeod, R., Frenkel, J., Estes, R., Mack, D.G., Eisenhower, PB, Gibori, G. 1988. Subcutaneous and intestinal vaccination with tachyzoites of *Toxoplasma gondii* and acquisition of immunity to peroral and congenital *Toxoplasma* challenge. *Journal of Immunology* 140, 1632-37.
35. Motomoura, I., Jo, K., 1970. Estimation of the Number of Parasites within a Cyst, and Growth and Distribution of Cysts in the Brains of Mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Tropical Medicine (Nagasaki)* 12, 41-50.
36. Nielsen HV, Innes E A, Petersen E, Buxton D. (2000) Strategies for development of vaccines against *Toxoplasma gondii*. In: Thomas P.A., Petersen E. (eds.) *Congenital toxoplasmosis*. Springer, Berlin Heidelberg New York 314-322.
37. Paulino JP, Vitor RW. (1999) Experimental congenital toxoplasmosis in Wistar and Holtzman rats. *Parasite* 6, 63-66.
38. Pavesio CE, Chiappino ML, Gormley P, Setzer PY, Nichols BA. (1995) Acquired retinochoroiditis in hamsters inoculated with ME 49 strain *Toxoplasma*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 36, 2166-75.
39. Remington JS, Desmonts G. (1990) Toxoplasmosis. In: Remington J. S., Klein, J.O. (Eds.), *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infants*. W. Saunders Co., Philadelphia pp 90-195.
40. Reyes L, Frenkel JK. (1987) Specific and nonspecific mediation of protective immunity to *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity* 55, 856-863.
41. Roberts CW, Alexander J. (1992) Studies on a murine model of congenital toxoplasmosis: vertical disease transmission only occurs in Balb/c mice infected for the first time during pregnancy. *Parasitology* 104, 19-23.
42. Roberts CW, Brewer JM, Alexander J. (1994) Congenital toxoplasmosis in the Balb/c mouse: Prevention of vertical disease transmission and fetal death by vaccination. *Vaccine* 12, 1389-94.

43. Simitch T, Petrovitch ZL, Bordjochki A, Tomanovic B, Savin Z. (1960) Essais de prémunition contre la Toxoplasmose du hamster. Recueil de Médecine Vétérinaire 136 :1019-1022.
44. Tarabla, H. 2000. Epidemiología diagnóstica. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé (Argentina) pp. 37-53.
45. Thouvenin M, Candolfi E, Villard O, Klein JP, Kient T. (1997) Immune response in a murine model of congenital toxoplasmosis: increased susceptibility of pregnant mice and transplacental passage of *Toxoplasma gondii* are Type-2 dependent. Parasitology 39, 279-283.
46. Zenner L, Estaquier J, Darcy F, Maes P, Capron A, Cesbron-Delaw M. (1993) Rat Model of Congenital Toxoplasmosis: Rate of Transmission of Three *Toxoplasma gondii* Strains to Fetuses and Protective Effect of a Chronic Infection. Infection and Immunity 61, 360-363.
47. Zenner L, Estaquier J, Darcy F, Maes P, Capron A, Cesbron-Delaw M. (1999). Protective immunity in the rat model of congenital toxoplasmosis and the potential of excreted-secreted antigens as vaccine components. Parasite Immunology 21, 261-72

Ms. No.: EP-08-242R1

Title: TOXOPLASMA GONDII: CONGENITAL TRANSMISSION IN A HAMSTER MODEL.

Corresponding Author: Dr. Alvaro Freyre

Authors: Cristina G Fialho, Doctor in Veterinary; Lorena E Biggatti, Doctor in Veterinary; Flavio A Araujo, Professor; Jesús D Falcón, Professor; Juliana Méndez, Professor; Mariana González, Professor

Dear Dr. Freyre,

I am pleased to inform you that your manuscript referenced above has been accepted for publication. Thank you for making the suggested changes in the manuscript. I am surprised that proportional weight gain does not give a better result than straight weight gain, but any non-invasive method is to be preferred and if it works for you, then that is great.

Your article has been forwarded to Elsevier's Production Department, and you should be receiving confirmation from them shortly.

Many thanks for submitting your fine paper to Experimental Parasitology.

Sincerely,

John Horton
 Editor-in-Chief
Experimental Parasitology
 E-mail: ep@elsevier.com



Toxoplasmose animal no Brasil Animal Toxoplasmosis in Brazil

Cristina Germani Fialho², Mariana Caetano Teixeira³ & Flávio Antônio Pacheco de Araujo⁴

Resumo

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, parasito pertencente ao reino Protista, filo Apicomplexa, ordem Eucoccidiida e família Sarcocystidae. É um coccídeo intracelular obrigatório, que infecta naturalmente o homem, os animais selvagens e domésticos, e também os pássaros. É uma infecção de ampla distribuição geográfica e depende de alguns fatores, como clima, condição sócio-econômica, e cultural. Os hospedeiros definitivos são os membros da família Felidae. A infecção ocorre pela ingestão de oocistos, taquizoítos, ou bradizoítos, e em algumas espécies também por transmissão transplacentária e transmamária. É uma doença de importância em Saúde Pública, pelas alterações que causa nos fetos humanos, e de importância em produção animal pelas perdas por aborto. O diagnóstico laboratorial pode ser realizado pela demonstração do coccídeo (parasitológico), por métodos indiretos (imunológico) e por métodos de biologia molecular. A doença possui tratamento, mas não existem atualmente vacinas para toxoplasmose humana, apenas há uma vacina comercial para ovinos e estudos em outras espécies animais.

Descritores: *Toxoplasma gondii*, Protista, Apicomplexa.

Abstract

Toxoplasmosis is caused by *Toxoplasma gondii*, a parasite which belongs to the kingdom Protista, phylum Apicomplexa, order Eucoccidiida and family Sarcocystidae. It is an obligate intracellular coccidian, which naturally infects human beings, wild and

² M.V. MSc. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária da FAVET-UFRGS

³ M.V. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária da FAVET-UFRGS

⁴ Prof. Dr. Departamento de Patologia clínica. FAVET-UFRGS. E-mail: faraujo@ufrgs.br

domestic animals, as well as birds. It is a geographically wide spread infection and it depends on some factors such as climate, social-economic and cultural conditions. The definitive hosts are members of the family Felidae. The infection occurs by the ingestion of oocysts, tachyzoites or bradyzoites, and in some species it also happens by transplacental and transmammary transmission. It is a disease of great importance for Public Health, because the alterations it causes in human fetuses, and concerning animal production due to abortion losses. Laboratorial diagnostics may be done by the demonstration of coccidian (parasitological), by indirect methods (immunologic) and by methods of molecular biology. This disease has treatment, but currently there are no vaccines for human toxoplasmosis, only a commercial vaccine for ovine and studies with other animal species.

Key words: *Toxoplasma gondii*, Protista, Apicomplexa.

I. INTRODUÇÃO

II. HISTÓRICO

III. EPIDEMIOLOGIA

IV. TOXOPLASMOSE NAS DIFERENTES ESPÉCIES ANIMAIS

- 1) Toxoplasmose em felinos**
- 2) Toxoplasmose em cães**
- 3) Toxoplasmose em caprinos**
- 4) Toxoplasmose em ovinos**
- 5) Toxoplasmose em bovídeos**
- 6) Toxoplasmose em eqüinos**
- 7) Toxoplasmose em aves**
- 8) Toxoplasmose em suínos**

V. DIAGNÓSTICO

VI. TRATAMENTO

VII. PREVENÇÃO E CONTROLE

VIII. IMUNOTERAPIA

IX. CONCLUSÕES

I. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, parasito pertencente ao reino protista, filo Apicomplexa, ordem Eucoccidiida e família Sarcocystidae [121,122]. Esse parasito é um coccídeo intracelular obrigatório, que infecta naturalmente o homem, os animais selvagens e domésticos, e também os pássaros. Os hospedeiros definitivos são os felídeos, pois só neles ocorre o ciclo sexuado do parasito, com a eliminação de oocistos que no ambiente esporulam e se tornam infectantes [113].

A patogenia e sinais clínicos são bem variados, ocorrendo desde casos benignos com febre e discreto aumento ganglionar, até casos de grave comprometimento do sistema nervoso central, alterações oculares provocando cegueira, ou aborto [157,205]. A infecção natural dos hospedeiros em geral, é principalmente adquirida pela ingestão de cistos através do consumo de carne crua ou mal cozida ou através de oocistos em alimentos contaminados [147].

II. HISTÓRICO

Têm-se realizado levantamentos da infecção toxoplásmica em quase todos os continentes desde o relato do protozoário em 1908 por Nicolle & Manceaux na Tunísia, África [158,159] e Splendore na cidade de São Paulo, Brasil [212].

O primeiro caso de toxoplasmose humana foi descrito em 1913 [174] em um menino com quadro febril e com esplenomegalia. Em animais podemos citar como primeiros relatos: em cães, na Itália [40]; em ovinos nos EUA [218]; suínos nos Estados Unidos [76]; e em caprinos também nos Estados Unidos [77].

Foi demonstrado que o *T. gondii* podia ser transmitido pela exposição a fezes de felinos [108], e posteriormente foi comprovado que a infectividade estava relacionada com um pequeno coccídeo eliminado juntamente com as fezes desses animais [67,88,]. No período de 1975-1976, foi descrito o ciclo selvático do parasito, evidenciando que não só os felinos domésticos eram os responsáveis pela perpetuação do protozoário [174].

III. EPIDEMIOLOGIA

A toxoplasmose é, do ponto de vista epidemiológico, uma infecção de ampla distribuição geográfica, pois está presente em todo planeta, com índices de soropositividade variando de 23 a 83%, dependendo de alguns fatores como: climáticos, sócio-econômicos, e culturais. A infecção ocorre em todos os mamíferos e aves [157].

Felinos infectam-se por ingestão de taquizoítos (pseudocistos) ou bradizoítos (cistos) de tecidos de roedores ou de carne crua de outras espécies oferecidas a eles. Também pela ingestão de oocistos esporulados [174,219], por transmissão transplacentária [117] e transmamária [176]. A chave da epidemiologia da toxoplasmose parece ser o gato de rua, por serem os únicos hospedeiros da forma sexuada, e a areia e solo contaminados por fezes contendo oocistos, serem fontes duradouras de infecção [15]. Além disso, soma-se o fato de que os felinos cobrem suas fezes, aumentando as condições de sobrevivência do oocisto. A presença de oocistos no solo foi relatada por vários autores [55,103,112]. Para ocorrer esporulação são necessárias condições ideais de umidade, oxigenação e temperatura, podendo o oocisto permanecer infectante por até 18 meses [113].

Surtos de toxoplasmose em humanos foram relatados por muitos autores [21,59,149], a partir de consumo de carne mal cozida, verduras e água contaminadas. Em um estudo foi verificado que a proporção de humanos que adquiriram infecção pelo *T. gondii* foi mais alta na população que tem o hábito de comer carne mal-passada [8]. O risco de infecção por este protozoário aumenta pelo consumo de carne de suínos, seguido da de ovinos e caprinos [97]. Após a ingestão de oocistos ou cistos, e liberação de taquizoítos para a circulação sanguínea e linfática, se o hospedeiro intermediário for uma fêmea gestante, o parasito pode invadir os tecidos do feto [20].

Não há uma grande evidência de importância epidemiológica dos cães na transmissão desta parasitose. No caso de cães rolares em fezes de gatos contendo oocistos, eles não esporulariam no pêlo dos cães, provavelmente pela inadequada temperatura e umidade. Mas os oocistos esporulados de *T. gondii* podem atravessar o trato intestinal dos caninos e serem excretados nas fezes nesse mesmo estágio infeccioso [125].

IV. TOXOPLASMOSE NAS DIFERENTES ESPÉCIES ANIMAIS

1) Toxoplasmose em felinos

Existe uma elevada soroprevalência de *T. gondii* nos gatos, mas a doença clínica é rara, pois o ciclo enteroepitelial não costuma produzir sinais clínicos. Navarro *et al.* [153] inocularam experimentalmente gatos e observaram hipertermia, corrimento ocular, quadro pulmonar e fezes pastosas a líquidas. Houve inclusive a

morte de um animal que estava eliminando oocistos. A infecção transplacentária pode causar aborto ou nascimento de filhotes com sinais clínicos severos podendo causar morte [64].

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em gatos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
SP	SF	50,8	Sogorb <i>et al.</i> (1972) [206]
AM e RO	HAI	90,63	Ferraroni & Marzochi (1978) *
AM	HAI	81	Ferraroni <i>et al.</i> (1980) **
RS	HAI	24	Mendez (1983) [141]
SP	HAI	59	Santos <i>et al.</i> (1983) [185]
RS	HAI	40,7	Chaplin <i>et al.</i> (1984) [44]
SP	IFI	25,9	Rosa <i>et al.</i> (1987) [181]
RS	HAI	10,2	Bracini <i>et al.</i> (1992) [22]
SP	IFI	37,7	Camargo <i>et al.</i> (1998) [30]
SP	ELISA	27,8	Lucas <i>et al.</i> (1998) [127]
PR	IFI	73	Garcia <i>et al.</i> (1999) [96]
SP	IFI	17,7	Lucas <i>et al.</i> (1999) [126]
SP/PR	IFI	19,4	Langoni <i>et al.</i> (2001) [116]
SP	ELISA	40	Meireles (2001) [138]
PR	IFI	Zona urbana: 45	Carletti <i>et al.</i> (2002) [35]
		Peri-urbana: 81,81	
SP	MAT	26,3	Silva <i>et al.</i> (2002) [196]
SP	IFI	18	Silva, Cutolo & Langoni (2002) [191]
	MAD	19	
RS	HAI	37	Araújo <i>et al.</i> (2003) [13]
RJ	HAI	19,5	Netto <i>et al.</i> (2003) [156]
	ELISA	2,55	
PR	MAT	84,4	Dubey <i>et al.</i> (2004) [69]
RO	MAT	87,3	Cavalcante <i>et al.</i> (2006) [38]
	IFI	87,3	
SP	MAT	35,4	Pena <i>et al.</i> (2006) [169]
PR	IFI	17,2	Vargas (2006) [222]
SP	IFI	25	Bresciani <i>et al.</i> (2007) [25]
PR	IFI	16,3	Cruz (2007) [56]
RS	HAI	26,94	Pinto (2007) [173]
	IFI	37,96	

* apud Vidotto (1992) [229]

** apud Frenkel (1997) [87]

Outras pesquisas foram realizadas no intuito de observar oocistos. Foram examinadas fezes de 15 felinos com até quatro meses de idade, encaminhadas ao Laboratório de Protozoologia da UFRGS - RS, e 13 (86,6%) apresentaram oocistos tipo-*Toxoplasma* [42]. Um estudo retrospectivo sobre pesquisas de oocistos, no mesmo laboratório, entre os anos de 1986 a 1990, e obtiveram 20% de positividade [22].

2) Toxoplasmose em cães

A toxoplasmose clínica foi relatada pela primeira vez em um cão em Turin, na Itália por Mello [40]. Carini no Brasil [34] observou infecção aguda fatal, em um cão jovem.

Os sinais clínicos em cães podem envolver os sistemas neuromuscular, respiratório e gastrointestinal [63]. Em avaliação da presença de anticorpos para *T. gondii* em 80 cães com sintomatologia nervosa foi detectada IgG em 26 animais (32,5%) e IgM em 25 (31,2%) [27]. Em cães inoculados experimentalmente foi observado aumento de temperatura em todos, num período de 7 a 14 dias, além de outros sintomas moderados. Porém um cão apresentou sintomatologia severa, incluindo anorexia, diarreia e alterações respiratórias [195]. Num outro experimento foi observado em todos os cães, linfonodos aumentados e a presença de taquizoítos na urina e sangue, além de alteração ocular em 7 do total de 9 cães [2]. Foi descrita toxoplasmose ocular em cães jovens por inoculação experimental [1]. A infecção transplacentária, produzindo aborto e morte fetal, foi verificada após a inoculação experimental de *T. gondii* em cadelas durante a gestação [24].

Tabela 2 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em cães, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
PR	SF	51,5	Giovanoni (1958) [100]
RJ	SF	79,2	Coutinho (1968)*
GO	SF	57,1	Fernandes & Barbosa (1972) [78]
SP	IFI	72	Ishizuka, Miguel & Brogliato (1974) [111]
SP	SF	90	Sogorb <i>et al.</i> (1976)*
SP	IFI	71,90	Larson (1976)*
AM e RO	HAI	68,43	Ferraroni & Marzochi (1978)*
AM	HAI	63	Ferraroni <i>et al.</i> (1980)**
RS	HAI	3,1	Chaplin <i>et al.</i> (1980) [43]
SP	IFI	63,8	Ishizuka & Yasuda (1981) [110]
RS	HAI	21	Chaplin <i>et al.</i> (1984) [44]
SP	IFI	63,8	Salata <i>et al.</i> (1985)*
SP	IFI	91	Germano, Erbolato & Ishizuka (1985) [99]
PR	IFI	37,84	Freire <i>et al.</i> (1991)*
RS	HAI	4,96	Braccini <i>et al.</i> (1992) [22]
MG	IFI	47,30%	Guimarães <i>et al.</i> (1992) [106]
MG	HAI	52,7	Duran <i>et al.</i> (1997) [72]
MG	HAI	22,5	Silva <i>et al.</i> (1997) [194]
	IFI	35	
	ELISA	35	
RS	HAI	37,37	Lagaggio <i>et al.</i> (1997) [114]
PR	IFI	23,40	Navarro <i>et al.</i> (1997) [150]
SP	IFI/ELISA A	80	Domingues <i>et al.</i> (1998) [62]
MG	ELISA	52,70	Cabral <i>et al.</i> (1998) [29]
PR	IFI	84,1	Garcia <i>et al.</i> (1999) [96]
SP	ELISA	81,28	Higa <i>et al.</i> (2000) [107]
SP	ELISA	50,5	Meireles (2001) [138]
SP	HAI/ IFI/ ELISA/ IB	33	Mineo <i>et al.</i> (2001) [144]
PR	MAT	21,3	Souza <i>et al.</i> (2003) [208]
PR	IFI	61,9	Souza <i>et al.</i> (2001) [209]
MT	IFI	35	Souza <i>et al.</i> (2001) [211]
SP	IFI	51,19	Varandas <i>et al.</i> (2001) [221]
PR	IFI	Zona urbana: 46,82	Carleti <i>et al.</i> (2002) [35]
		Peri-urbana: 68,96	
RO	IFI	76,40	Cañón-Franco <i>et al.</i> (2003) [32]
PE	IFI	46,60	Coelho, Kobayashi & Carvalho Jr. (2003) [48]
SP	IFI	18	Silva, Cutolo & Langoni (2002) [191]

	MAD	19	
BA	IFI	63,55	Barbosa <i>et al.</i> (2003) [17]
SP e PR	MAT	21,30	Souza <i>et al.</i> (2003) [208]
RO	IFI	77,90	Cavalcante <i>et al.</i> (2004) [39]
MG	ELISA	30,30	Mineo <i>et al.</i> (2004) [145]
PB	IFI	45,10	Ragoso <i>et al.</i> (2004) [177]
PR	IFI	45,73	Reis <i>et al.</i> (2004) [178]
MG	IFI	62,20	Rosado, Guimarães & Oliveira (2004) [183]
PB	IFI	45,10	Azevedo <i>et al.</i> (2005) [16]
SP	IFI	33,1	Langoni <i>et al.</i> (2006) [115]
PR	IFI	20,8	Romanelli <i>et al.</i> (2007) [180]
SP	MAD	26	González (2008) [101]

* apud Vidotto (1992) [225]

**apud Frenkel (1997) [87]

3) Toxoplasmose em caprinos

O primeiro relato de toxoplasmose em caprinos foi feito por Feldman & Miller em 1956, nos Estados Unidos da América [77].

Os caprinos se contaminam ingerindo oocistos nas pastagens, ou que são carregados para a criação por vetores mecânicos. Nas criações de caprinos a presença da toxoplasmose causa perdas econômicas por abortos e mortes neonatais [26]. Após inoculação experimental, foi observado hipertermia, anorexia e letargia em caprinos com mais de 12 meses de idade[184]. Perdas reprodutivas em um rebanho de caprinos foi associada a presença de anticorpos para *T.gondii* e lesões. Nesse rebanho foi observado também linfonódos mesentéricos pálidos e aumentados, pulmões firmes, intercalando áreas claras e vermelhas, além de pneumonia, encefalite, meningoencefalite e mielite não supurativa, linfadenite necrosante, nefrite intestinal e hepatite periportal linfoplasmocitárias [171]. Em outro rebanho só 3 de 39 fêmeas analisadas com problemas reprodutivos apresentaram anticorpos para *T. gondii*[124].

Tabela 3 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em caprinos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
BA	HAI	10	Amaral, Santos & Rebouças (1978) [7]
RS	HAI	16,1	Araujo <i>et al.</i> (1984) [12]
MG	IFI	87	Chiari, Lima & Antunes (1985) [45]
MG	IFI	36,1% caprino leiteiro, 11,4% corte 62,9% alimentação e renda familiar	Machado & Lima (1987) [128]
MG	IFI	92,4% área peri urbana Belo Horizonte 79% área urbana Pedra Azul 32% área rural Pedra Azul.	Chiari <i>et al.</i> (1987) [46]
RS	HAI	23	Braccini <i>et al.</i> (1992) [22]
RJ	IFI	15,84	Serra-Freire, Norberg & Gazeta (1994) [189]
PR	IFI	30,71	Sella <i>et al.</i> (1994) [188]
MG	HAI	11,9	Figueiredo, Cabral & Silva (1997) [82]
	IFI	10	
PB	IFI	26,8	Alves <i>et al.</i> (1997) [5]
BA	AL	28,93	Gondim <i>et al.</i> (1999) [102]
SP	IFI	14,47	Mainardi <i>et al.</i> (2000) [131]
SP	ELISA	17	Meireles (2001) [138]
SP	IFI	8	Silva, Cutolo & Langoni (2002) [191]
	MA D	11	
PE	IFI	10,33	Silva, Cunha & Meireles (2003) [190]
RS	HAI	19,4	Maciel & Araújo (2004) [129]
	IFI	30	
SP	IFI	28,7	Figliuolo (2004) [81]
BA	IFI	11,53	Uzêda <i>et al.</i> (2004) [220]
MG	IFI	45,8	Carneiro (2006) [37]
	ELISA A	42,8	
PB	IFI	24,5	Faria <i>et al.</i> (2007) [75]
RN	IFI	17,1	Lima <i>et al.</i> (2008) [124]
CE	ELISA A	25,1	Cavalcante <i>et al.</i> (2008) [40]

4) Toxoplasmose em ovinos

A toxoplasmose ovina foi relatada pela primeira vez em 1942, por Olafson & Monlux, nos EUA [218].

Em Jaboticabal oito ovinos foram inoculados com *T. gondii*, e apresentaram os seguintes sinais: hipertermia, distúrbios respiratórios (dispnéia, tosse e corrimento nasal), anorexia, diarreia, tremores musculares e prostração [133].

Em Rosário do Sul, foi investigada a possibilidade de transmissão congênita do *T. gondii* em cordeiros, pela detecção de anticorpos IgG e IgM em soros de cordeiros e de suas mães, que não apresentavam sinais clínicos. Foram utilizadas as técnicas de HAI e IFI e pela interpretação dos resultados da sorologia foi constatado que 18,33% dos cordeiros que apresentaram títulos na primeira coleta tiveram um decréscimo ou negatificação da resposta imunológica na segunda coleta, indicando transferência passiva de anticorpos. Apenas 3,33% dos cordeiros, filhos de fêmeas que indicavam infecção recente, apresentaram títulos crescentes [198].

Tabela 4 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em ovinos, no Brasil.

ESTADO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
RS	HAI	23	Amaral, Santos & Rebouças (1978) [7]
RS	SF	39	Larsson <i>et al.</i> (1980) [119]
RS	IFI	9,8	Silva, Costa & Souza (1980) [204]
RS	IFI	12,8	Silva <i>et al.</i> (1981) [203]
RS	HAI	Uruguaiana 18,2 Marau 18,6	Zonta <i>et al.</i> (1987) [231]
RS	AL	10	Martins & Hancock (1991) [135]
RS	HAI	35,2	Braccini <i>et al.</i> (1992) [22]
SP	HAI	17,5	Oliveira Sequeira <i>et al.</i> (1993) [165]
	IFI	22,5	
PR	IFI	47,83	Freire <i>et al.</i> (1995) [85]
RS	HAI	22	Ulon (1996) [218]
	IFI	24	
SP	HAI	30,4	Rosa <i>et al.</i> (1997) [182]
	IFI	55,11	
RS	AL	44	Martins <i>et al.</i> (1998) [136]
BA	AL	18,75	Gondim <i>et al.</i> (1999) [102]
PR	IFI	51,8	Garcia <i>et al.</i> (1999) [97]
SP	ELISA	31	Meireles (2001) [138]
SP	IFI	7,7	Silva & Langoni (2001) [193]
SP	IFI	23	Silva, Cutolo & Langoni (2002) [191]
	MAD	27	
PE	IFI	35,3	Silva, Cunha & Meireles. (2003) [190]
PR	IFI	54,3	Ogawa <i>et al.</i> (2003) [162]
RS	HAI	13,6	Escopelli (2004) [74]
	IFI	15,2	
SP	IFI	34,7	Figliuolo <i>et al.</i> (2004) [80]
DF	IFI	38,22	Ueno (2005) [217]
MG	IFI	43,2	Carneiro (2006) [37]
	ELISA	31,2	
RS	HAI	19,5	Silva & Rue (2006) [199]
	IFI	44,8	
PR	IFI	7	Moura <i>et al.</i> (2007) [148]
PR	IFI	51,5	Romanelli <i>et al.</i> (2007) [180]

5) Toxoplasmose em bovídeos

A doença natural em bovídeos foi diagnosticada pela primeira vez por Houersdorf & Holtz em 1952 [163].

Foram inoculados seis bovinos (três *Bos indicus* e três *Bos taurus*) e três búfalos (*Bubalus bubalis*) com oocistos de *T. gondii*. Todos os animais produziram anticorpos para *T. gondii* a partir do quinto dia, detectados pela IFI, sendo os títulos mais elevados em taurinos [163].

Tabela 5 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em bovídeos, no Brasil.

ESTA DO	TESTE	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIAS
MG	IFI	12	Costa & Costa (1978) [50]
SP	IFI	32,3	Costa <i>et al.</i> (1978) [51]
AM	HAI	60	Ferraroni & Marzochi (1978)*
AM	HAI	12	Ferraroni <i>et al.</i> (1980)*
RS	HAI	3,4	Silva <i>et al.</i> (1982/83) [200]
RS	HAI	5,4	Chaplin <i>et al.</i> (1984) [44]
MG	IFI	9	Passos, Lima & Figueiredo (1984) [168]
RS	HAI	6,7	Braccini <i>et al.</i> (1992) [22]
PR	IFI	32,34	Marana <i>et al.</i> (1994) [132]
RS	HAI	29,13	Adamy <i>et al.</i> (1995) [3]
RS	HAI	38,78	Lazzarotto <i>et al.</i> (1997) [120]
MS	HAI	4,29	Araújo, Carvalho, Balbuena (1998) [14]
BA	AL	Bovinos 1,03 Búfalos 3,85	Gondim <i>et al.</i> (1999) [102]
PR	IFI	25,8	Garcia <i>et al.</i> (1999) [97]
SP	IFI	49,17	Costa <i>et al.</i> (2001) [53]
MG			
SP	IFI	3,2	Fujii <i>et al.</i> (2001) [92]
SP	ELISA	11	Meireles (2001) [138]
SP	IFI	49,9	Souza <i>et al.</i> (2001) [207]
PR	IFI	55,71	Carleti <i>et al.</i> (2002) [35]
PR	IFI	41,4	Daguer <i>et al.</i> (2004) [57]
PR	IFI	26	Ogawa <i>et al.</i> (2005) [161]
BA	IFI	9,8	Oliveira <i>et al.</i> (2005) [164]

* apud Vidotto (1992) [225]

**apud Frenkel (1997) [87]

6) Toxoplasmose em eqüinos

Os eqüinos são animais herbívoros, e a infecção nesta espécie dá-se, provavelmente, ingerindo ou inalando oocistos presentes em alimentos, feno e cama contaminados com oocistos [192].

Foram observados sinais clínicos em 52 eqüinos da raça Psi, que foram positivos para *T. gondii* pelo teste de Sabin-Feldman. Os eqüinos apresentavam incoordenação motora (24 animais), história de pelo menos um aborto (23 animais), e irritabilidade excessiva (5 animais) [130]. Em uma inoculação experimental de éguas prenhes negativas para *T.gondii*, com oocistos deste parasito foram relatados sinais clínicos de hipertermia, perda de apetite, prostração, diarréia, secreção ocular mucosa e corrimento nasal seroso [134].

Tabela 6 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em eqüinos, no Brasil.

ESTA DO	TESTE	PREVALÊNC IA	REFERÊNCIAS
RS	HAI	8	Silva <i>et al.</i> (1981) [201]
MS	IFI	32,80	Laranjeira, Ishizuka & Hyakutaki (1985) [118]
SP	IFI	24,8	Costa <i>et al.</i> (1986)
RS	HAI	2	Braccini <i>et al.</i> (1992) [22]
RS	HAI	59	Barcelos <i>et al.</i> (1997) [18]
RJ	IFI	4,42	Gazêta <i>et al.</i> (1997) [98]
SP, PR, MS, MT	IFI	31,55	Vidotto <i>et al.</i> (1997) [227]
PR	IFI	12,1	Garcia <i>et al.</i> (1999) [97]
BA	IFI/MA D	1,5	Mendonça <i>et al.</i> (2001) [142]
PR	IFI	28,46	Navarro <i>et al.</i> (2002) [151]
PR	IFI	36,36	Carleti <i>et al.</i> (2002) [35]
SP	IFI	47,05	Villalobos <i>et al.</i> (2005) [224]
MG	IFI	12,82	Naves <i>et al.</i> (2005) [154]

7) Toxoplasmose em aves

A toxoplasmose em aves no Brasil, foi relatada em 1955, em um lote de frangos com 2 a 6 meses de idade, com mortalidade de 50% [160].

Em frangos de corte foi observado seis dias pós-inoculação de oocistos, diarreia esverdeada com duração de uma semana, e uma ave com apatia morreu após sintoma de dificuldade respiratória. Na necrópsia foi observado esplenomegalia e coração pálido [139]. Codornas inoculadas com taquizoítos de *T. gondii* apresentaram relataram esplenomegalia, hepatomegalia e hipertrofia pulmonar [4].

Tabela 7 - Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em aves no Brasil.

ESTA DO	TESTE	PREVALÊNCI A	REFERÊNCIAS
AM	HAI	41,18	Ferraroni & Marzochi (1978)*
RS	HAI	2,8	Araújo <i>et al.</i> 1989 [11]
RS	HAI	30,32	Barcelos <i>et al.</i> 1997 [19]
PR	IFI	10,3	Garcia <i>et al.</i> (2000) [94]
PR	MAT	40	Dubey <i>et al.</i> (2003) [70]

* apud Vidotto (1992) [225]

8) Toxoplasmose em suínos

A toxoplasmose suína natural foi diagnosticada pela primeira vez nos Estados Unidos por Farrel *et al.* (1952), em rebanho com mortalidade em todas as faixas etárias [76]. No Brasil, foi diagnosticada pela primeira vez por Silva (1959), em Minas Gerais, pelo encontro dos protozoários nos pulmões, coração, fígado e linfonodo mesentérico, em um suíno de 28 dias de idade, de uma leitegada, da qual, dois já haviam morrido nos primeiros dias de vida [197].

Os suínos adquirem a toxoplasmose, principalmente pela ingestão de água e ração contaminadas com fezes de felinos. A maioria das infecções são subclínicas, ocorrendo doença clínica em neonatos e leitões jovens e a ocorrência de aborto [147]. Foi relatada uma elevada taxa de fetos munificados em uma granja, e verificado 100% de positivos para *T. gondii*, no soro das 30 matrizes pesquisadas [47]. Porcas inoculadas com taquizoítos de *T. gondii* durante a gestação abortaram ou apresentaram fetos

mumificados e leitões aparentemente normais [226]. Nos suínos adultos, os sinais incluem febre, cegueira, fraqueza e queda no ganho de peso [147].

Tabela 8 - Frequências de anticorpos para *T. gondii* em soros de suínos no Brasil.

ESTADO	TESTE	FREQÜÊNCIA	REFERÊNCIAS
SP e RS	HAI	22,8%	Amaral; Santos & Rebouças (1975) [6]
MG	IFI	29,9%	Schenk, Lima & Viana (1976) [187]
SP	IFI	22,5%	Correa, Salata & Oliveira (1978) [49]
SP	HAI	24,68%	Santos, Amaral & Rebouças (1978) [186]
SP	IFI	32,8%	Ishizuka (1978) [109]
SP	IFI	Leitões 52,17 Crescimento 48,83 Fêmeas 45,83 Terminação 45,40	Vasconcelos, Costa & Ávila (1979) [223]
RS	HAI	7,2%	Silva <i>et al.</i> (1981) [202]
RS	HAI	7,4%	Chaplin & Silva (1984) [41]
MG	IFI	33,4%	Passos & Figueiredo (1984) [167]
MG	IFI	Intensivo 54% Semi-intensivo 49,2%	D'angelino & Ishizuka (1986) [58]
	HAI	Intensivo 46% Semi-intensivo 42, 7%	
PR	IFI	34,62%	Vidotto <i>et al.</i> (1986) [228]
SC	HAI	1,16%	Wentz, Sobestiansky & Chaplin (1988) [230]
PR	IFI	37,84%	Vidotto <i>et al.</i> (1990) [229]
MG	IFI	90,4%	Guimarães <i>et al.</i> (1992) [105]
RS	HAI	18%	Grünspan <i>et al.</i> (1995) [104]
RJ	HAI	0,79%	Souza (1995) [210]
	IFI	0,88%	
GO	HAI	27,74%	Matos <i>et al.</i> (1999) [137]
RS	IFI	7,3%	Araujo (1999) [10]
	ELIS A	9,5%	
PE		54,17	Porto <i>et al.</i> (1999) [175]
PR	IFI	24%	Garcia <i>et al.</i> (1999) [97]
SP	ELIS A	9,57	Suárez, Andrade Jr., Galisteo (1999) [213]
SP	ELIS A	8,5	Meireles (2001) [138]
PR	IFI	15,35%	Tsutsui <i>et al.</i> (2001) [216]
PR	IFI	42,85	Carletti <i>et al.</i> (2002) [35]

RS	HAI	20	Fialho & Araújo (2003) [79]
	IFI	33,75	
PR	IFI	4	Carletti <i>et al.</i> (2005) [36]
SP/ PE	IFI	2,11	Caporali <i>et al.</i> (2005) [33]
	MAD	1,32	
RS	HAI	9,2	Pereira (2005) [170]
	IFI	13,9	
RO	MAT	37,5	Cavalcante <i>et al.</i> (2006) [38]
	IFI	43,7	
SP	IFI	8,5	Lima <i>et al.</i> (2007) [123]
MG/ SP	MAD	0	Pezerico <i>et al.</i> (2007) [172]
PR	IFI	8,54	Moura <i>et al.</i> (2007) [148]
PR	IFI	25,5	Millar <i>et al.</i> (2008) [143]

Além dos estudos sorológicos, muitos autores têm realizado pesquisa nas carnes e vísceras ou embutidos suínos. Por inoculação de amostras de lingüiça em camundongos foi encontrado 8,7% de positividade [60]. Em estudo de cérebros foi observado 50% de positivos [84]. Suínos inoculados com *T. gondii* após abate apresentaram 100% de positividade em cortes de carnes [215].

V. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado pela demonstração do coccídio (parasitológico), ou por métodos indiretos (imunológico) e por biologia molecular.

A pesquisa de oocistos pode ser realizada nas fezes de felídeos por método de centrifugoflutuação com solução de Sheather, no período de eliminação ativa do ciclo enteroepitelial, que dura uma a duas semanas. Mas, como a maioria dos gatos são assintomáticos, durante este estágio, normalmente o exame fecal não é um bom método diagnóstico [214].

A pesquisa direta do *T. gondii* pode ser feita a partir de diversos componentes orgânicos, como, sangue, líquido cefaloraquidiano, saliva, leite, escarro, medula óssea, cortes de placenta, além de conteúdos de infiltrados cutâneos, do baço, fígado, músculos e linfonodos [147,157]. O material obtido pode ser utilizado para fazer diagnóstico por inoculação em camundongo ou histopatológico [157].

O diagnóstico imunológico é feito pela presença de anticorpos específicos através de sorologia. Diversas provas imunológicas têm sido utilizadas na avaliação da infecção toxoplásmica como, reações de hemaglutinação (HAI), imunofluorescência indireta, aglutinação por imunoabsorção (ISAGA), ensaio imunoenzimático (ELISA) [54].

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose deve ser corretamente interpretado para diferenciar infecção de doença. Se a intenção é avaliar a imunidade do paciente, os testes sorológicos que detectam anticorpos da classe IgG são suficientes [31]. Mas para o diagnóstico da doença é preciso associar sintomas clínicos com a presença de variação de títulos de IgG (elevação ou redução), num período de duas a três semanas, ou a presença de anticorpos IgM [157]. Estima-se que um terço ou mais da população humana possua anticorpos para *T. gondii* [146]. No recém-nascido, anticorpos da classe IgG, podem ser anticorpos maternos, que na criança não infectada podem permanecer na circulação ao longo do primeiro ano de vida. É necessário realizar a IgM ou IgA, pois não atravessam a placenta e então, quando presentes indicam a produção pelo próprio feto, devido a infecção intra-uterina [54].

Devido aos felinos usualmente não desenvolverem anticorpos durante o período de eliminação dos oocistos, o exame sorológico não nos concede uma informação útil sobre a transmissibilidade da toxoplasmose nesta espécie. Um gato sorologicamente positivo (imune) apenas indica que ele provavelmente eliminou oocistos, e então, oferece menos perigo na transmissão que um gato negativo, embora, gatos imunes possam vir, mesmo que raramente, a eliminar oocistos numa nova infecção, sendo apropriado precauções ao lidar com fezes de felinos [66].

VI. TRATAMENTO

O tratamento mais utilizado é a associação de sulfadiazina com a pirimetamina, mas estão disponíveis outras sulfonamidas (sulfamerazina, sulfametazina e sulfapirazina), além de clindamicina, dapsona e atovaquona [157].

Crianças com diagnóstico de toxoplasmose devem ser tratadas durante o primeiro ano de vida, ou até que se exclua a infecção aguda. Já as crianças suspeitas devem ser acompanhadas por sorologia até a exclusão da infecção [9]. O esquema recomendado é a pirimetamina 2 mg/Kg/dia, via oral, nos primeiros dois dias,

seguido por 1 mg/Kg/dia por dois ou seis meses e, após, 1 mg/Kg/dia três vezes por semana; associada à sulfadiazina na dose de 100 mg/Kg/dia, via oral, de 12/12 horas. Para proteger a medula do efeito tóxico da pirimetamina, deve ser utilizado o 10 a 20 mg/dia do ácido folínico, via oral, três vezes por semana. Corticosteróides na dose 1mg/Kg/dia, via oral de 12/12 horas, têm sido recomendado nos recém-nascidos com grave comprometimento do Sistema Nervoso Central, quando a proteína do líquor for inferior a 1 g/dl ou quando for diagnosticada coriorretinite [61].

Em uma revisão das alternativas terapêuticas utilizadas para cães foi relatado o uso de sulfadiazina, pirimetamina, clindamicina, fosfato de clindamicina, e cloreto de clindamicina [23].

VII. PREVENÇÃO E CONTROLE

Para a população humana, a infecção por *T. gondii* é relacionada com o consumo de carne mal cozida contaminada com cistos deste parasito, por ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos provenientes de fezes de felídeos, infecção congênita [157] e provavelmente por infecção transmamária [166].

Uma das formas de reduzir a infecção humana pelo *T. gondii* é destruir os cistos da carne cozinhando-a até uma temperatura de 67°C [68], ou 60°C por 20', com garantia de que o calor penetre igualmente no alimento [155]. Foi observada a utilização do sal, na preparação de lingüiça suína, mostrou-se eficaz em 48 horas [152]. O congelamento por 18 a 24hs, pode ser considerado um meio de destruição dos cistos. [179]. Devemos lavar bem as mãos e utensílios após mexermos em carne crua para não ingerir formas infectantes, assim como lavá-las após contato com fezes de gato, ou após mexer na terra que podem estar contaminadas com oocistos. Nunca devemos beber leite não pasteurizado [83]. Também é necessário cobrir o tanque de areia das crianças, quando não estiver em uso. A caixa dos felinos deve ser limpa diariamente para evitar contato com oocistos esporulados e o destino adequado a essas fezes é a incineração. Devemos alimentar os gatos com ração e combater ratos e camundongos, além de fazer o controle da população felina [157].

A infecção congênita ocorre quando a mulher, adquire a primoinfecção pelo *T. gondii* durante a gestação, e quanto mais precoce isso ocorre mais severos serão os sinais clínicos [9]. Pode ocorrer aborto, nascimento de crianças com a tétrede de Sabin

(macro ou microcefalia, coriorretinite, calcificações cerebrais e retardo mental), déficit intelectual, retinocoroidite bilateral, estrabismo ou nascimento de crianças aparentemente normais, que apresentam cistos em estado de latente [157], vindo a manifestar a doença mais tardiamente, na primeira ou segunda década de vida, e isso pode ser devido às modificações hormonais [174]. Alterações oculares estão entre as mais frequentemente observadas por toxoplasmose [95,205]. As mulheres grávidas soronegativas para *T. gondii* não devem manter contato direto com fezes de gatos, solo ou ingerir carne mal passada. Devem beber água tratada, e fazer sorologia antes da gravidez, e pelo menos trimestralmente durante a gestação [9].

A infecção aguda em adultos pode acarretar alteração ganglionar, febre, um leve resfriado ou adenopatia, e hepatoesplenomegalia [54]. A toxoplasmose adquirida pelo paciente imunodeprimido frequentemente aparece como doença do Sistema Nervoso Central (encefalite), e retinite [157,205]. Os imunodeprimidos com sorologia negativa também devem fazer exames periódicos diagnosticando a infecção logo no início [174].

Para diminuir a infecção nos animais de criação, principalmente nos ovinos, caprinos e suínos, o número de gatos nas criações rurais deve ser reduzido [229]. As membranas fetais e fetos abortados devem ser removidos por pessoas usando luvas e enterradas ou incinerados para prevenir infecção em gatos e outros animais da criação [65].

Deve-se fazer o controle de artrópodes (moscas e baratas), já que eles podem ser disseminadores mecânicos de oocistos [174].

VIII. IMUNOTERAPIA

Não existe ainda vacina para toxoplasmose humana. Uma vacina foi testada com bom nível de proteção contra a emissão de oocistos toxoplásmicos pelos gatos, utilizando a cepa T-263. Uma outra vacina induziu imunidade em gatos, também na emissão de oocistos, após administração oral de cistos e bradizoítos da mesma cepa e posteriormente no desafio com cistos de T256 [89].

Muitos autores têm testado modelos experimentais em roedores, utilizando cepas diferentes como imunizantes e desafio para testar a imunidade para toxoplasmose [71,73,90,91]. Suínos, também têm sido utilizados para testar vacinas [86,93].

Existe uma vacina comercial para ovinos (Toxovax®), que reduz o aborto e é produzida com taquizoítos da cepa acistogênica S48 [28].

IX. CONCLUSÕES

O *Toxoplasma gondii* é um parasito de ampla distribuição e alta prevalência no Brasil. A toxoplasmose é uma doença importante pelos danos reprodutivos em várias espécies animais e principalmente nos humanos.

REFERÊNCIAS

1. **Abreu C.B., Navarro I.T., Reis A.C. F., Souza M.S.B., Machado R., Marana E.R.M., Prudêncio L.B., Mattos M.R. & Tsutsui V.S. 2002.** Toxoplasmose ocular em cães jovens inoculados com *Toxoplasma gondii*. *Ciência Rural*. 32: 807-812.
2. **Abreu C.B., Navarro I.T., Balarin M.R.S., Bracarense A.P.F.R.L., Marana E.R.M., Trapp S.M., Fuginaka C.A., Prudêncio L.B., Matos M.R. & Tsutsui V.S. 2001.** Aspectos clínicos, patológicos e sorológicos da toxoplasmose experimental em cães jovens. *Semina: Ciências Agrárias*. 22: 123-130.
3. **Adamy M., Moraes R.Q., Michelon E., Leite C.C., Colombo F.H., Ribas H.O., Cenci A., Santos M., Pit G., Bento L.S., Muller G., Langohr I., Flores M.L., Lazarotto J.J., Noal S.A. & Lagaggio V.R.A. 1995.** Estudos preliminares sobre toxoplasmose em gado leiteiro. In: *II Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS* (Santa Maria, Brasil). p. 332.
4. **Albuquerque G.R., Munhoz A.D., Oliveira F.C.R., Pinto A.R.S. & Lopes, C.W.G. 2002.** Alterações patológicas na infecção experimental de codornas (*Coturnix japonica*) com taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 11: 43-46.
5. **Alves C.J., Vasconcellos S.A., Navarro I.T. & Barbosa C.S. 1997.** Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Toxoplasma* em soros de caprinos de cinco centros de criação do nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 14: 75-77.
6. **Amaral V.D.O., Santos S.M. & Rebouças M.M. 1975.** Estudos preliminares sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma, por hemaglutinação, em soros de suínos provenientes dos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul, Brasil. *O Biológico*. 41: 105-107.
7. **Amaral V.D.O., Santos S.M. & Rebouças M.M. 1978.** Sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma em soros de caprinos e ovinos procedente,

- respectivamente dos estados da Bahia e Rio Grande do Sul, BR. *O Biológico*. 44: 331-340.
8. **Amato Neto V., Medeiros E.A.S., Levi G.C. & Duarte M.I.S. 1995.** *Toxoplasmose*. 4ed. São Paulo: Sarvier, 154p.
 9. **Andrade G.M., Carvalho A.L., Nogueira M.G.S. & Oréface F. 2004.** Toxoplasmose congênita – Orientação prática sobre prevenção e tratamento. *Revista Médica de Minas Gerais*. 14: 85-91.
 10. **Araujo F.A.P. 1999.** Avaliação soroepidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da região da Grande Erechim, RS – Brasil, detectados através das técnicas de imunofluorescência indireta de imunoenzimática. 125f. RJ. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz.
 11. **Araujo F.A.P., Silva N.R.S., Chaplin E.L. & Bigatti L.E. 1989.** Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em frangos abatidos para consumo humano em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 17: 23-28.
 12. **Araujo F.A.P., Silva N.R.S., Chaplin E.L. & Santos E.B. 1984.** Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de caprinos da Região da Grande Porto Alegre/RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 12: 35-40.
 13. **Araujo F.A.P., Silva N.R.S., Olicheski A.T., Beck C., Rodrigues R.J.D. & Fialho C.G. 2003.** Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. *Acta Scientiae Veterinariae*. 31: 89-92.
 14. **Araujo F.R., Carvalho C.M.E. & Balbuena C.B. 1998.** Levantamento sorológico para *Toxoplasma gondii* em bovinos de corte do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 20: 201-203.
 15. **Araujo W.N., Silva A.V. & Langoni H. 1998.** Toxoplasmose: uma zoonose – realidades e riscos. *Cães e Gatos*. 79: 20-27.
 16. **Azevedo S.S., Batista C.S.A., Vasconcellos S.A., Aguiar D.M., Ragozo A.M.A., Rodrigues A.A.R., Alves C.J. & Gennari S.M. 2005.** Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the State of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Research in Veterinary Science*. 79: 51-56.
 17. **Barbosa M.V.F., Guimarães J.E., Almeida M.A.O., Gondim L.F.P. & Regis G.B. 2003** 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*. 40: 457-465.
 18. **Barcelos A.S., Lagaggio V.R.A., Cenci A., Colombo F.H., Katzer L.H. & Noal S.A. 1997.** Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos de Uruguaiana-RS-Brasil. In: *IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS* (Santa Maria-RS). p. 565.
 19. **Barcelos A.S., Miolo J.R., Katzer L.H., Flores M.L. & Lagaggio V.R.A. 1997.** Hemaglutinação para toxoplasmose em aves domésticas do município de Santa Maria/RS. In: *IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS* (Santa Maria-RS). p. 564.
 20. **Blood D.C. & Radostits O.M. 1991.** *Clínica Veterinária*. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1263p.

21. **Bonametti A.M., Passos J.N., Silva E.M.K. & Bortoliero A.L. 1997.** Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Rio de Janeiro, 30: 21-25.
22. **Braccini G.L., Chaplin E.L., Stobe N.S., Araújo F.A.P. & Santos N.R. 1992.** Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, nos anos de 1986 a 1990. *Arquivos Faculdade Veterinária da UFRGS*. 20: 134-149.
23. **Bresciani K.D.S., Costa A.J., Navarro I.T., Toniollo G.H., Sakamoto C.A.M., Arantes T.P. & Gennari S.M. 2008.** Toxoplasmose canina: aspectos clínicos e patológicos. *Semina: Ciências Agrárias*. 29: 189-202.
24. **Bresciani K.D.S., Toniollo G.H., Costa A.J., Sabatini G.A. & Moraes F.R. 2001.** Clinical parasitological and obstetric observation in pregnant bitches with experimental toxoplasmosis. *Ciência Rural*. 31: 1039-1043.
25. **Bresciani W.R., Gennari S.M., Serrano A.C.M., Rodrigues A.A.R., Ueno T., Franco L.G., Perri S.H.V. & Amarante A.F.T. 2007.** Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. *Parasitology Research*. 100: 281-285.
26. **Breuning J. 2008.** Toxoplasmose em caprinos. *Caprinforma*. Ano V: p. 4.
27. **Brito A.F., Souza L.C., Silva A.V. & Langoni, H. 2002.** Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 97: 31-35.
28. **Buxton D.D., Thomson K.M., Maley S., Wright S. & Bos H.J. 1993.** Experimental challenge of sheep 18 months after vaccination with a live (S48) *Toxoplasma gondii* vaccine. *Veterinary Record*. 25: 310-312.
29. **Cabral D.D., Silva D.A.O., Mineo J.R., Ferreira F.A. & Duran F.P. 1998.** Frequency of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Uberlândia, MG. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 7: 87-90.
30. **Camargo M.C.G.O., Mouriz E.S.M., D'auria S.R.N.D. & Fraga G.M.D. 1998.** Toxoplasmose em felinos do município de São Paulo – Brasil, 1993-1995. In: *II Congresso Argentino de Zoonosis*. Asociación Argentina de Zoonosis. p.97.
31. **Camargo M.E. 1996.** Toxoplasmose: diagnóstico sorológico. *Boletim Médico do Laboratório Bronstein*, Porto Alegre, V: 4p.
32. **CAÑÓN-FRANCO W.A., BERGAMASHI D.P., RICHTZENHAN L.J., NOGUEIRA Y., CAMARGO L.M.A., SOUZA S.L.P. & GENNARI, S.M. 2003.** 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*. 40: 452-456.
33. **Caporali E.H.G., Silva A.V., Mendonça A.O. & Langoni H. 2005.** Comparação de métodos de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco, Brasil. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. 8: 19-24.
34. **Carini A. 1911.** A infection spontanée du pigeon et du chien due au toxoplasma cuniculi. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique*. 4: 518-519.
35. **Carletti R.T., Contente A.P.A., Navarro I.T., Prudencio L.B., Tsutsui V.S., Marana E.R.M. & Romão G.O. 2002.** Surto de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí - PR, Brasil: sorologia em animais domésticos. In: *XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (Gramado-Brasil)*. p. 60
36. **Carletti R.T., Freire R.L., Shimada M.T., Ruffolo B.B., Begale L.P., Lopes F.M.R. & Navarro I.T. 2005.** Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em

- suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*. 26: 563-568.
37. **Carneiro A.C.A.V. 2006.** *Soro-epidemiologia da toxoplasmose caprina e ovina no Estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte – MG. 116p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia das doenças infecciosas e parasitárias). Programa de Pós -Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Minas Gerais.
 38. **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. 2006.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural western Amazon, Brazil. *Journal of Parasitology*. 92: 863-864.
 39. **Cavalcante G.T., Aguiar D.M., Chiebao D.P., Meireles L.R., Andrade H.F., Camargo L.M.A., Labruna M.B., Ruiz V.L.A. & Gennari S.M. 2004.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em humanos e animais domésticos da zona rural do Município de Monte Negro, Rondônia em cães. In: *XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária* (Ouro Preto, Brasil). p.217.
 40. **Cavalcante A.C.R., Carneiro M., Gouveia A.M.G., Pinheiro R.R. & Vitor R.W.A. 2008.** Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60: 36-41.
 41. **Chaplin E.L. & Silva N.R.S. 1984.** Toxoplasmose: medidas preventivas. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 12: 21-24.
 42. **Chaplin E.L., Silva N.R.S. & Araujo F.A.P. 1991.** Eliminação de oocistos tipo-toxoplasma por felinos naturalmente infectados. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 19: 77-81.
 43. **Chaplin E.L., Silva N.R.S., Kessler R.H. & Souza S.G. 1980.** Prevalência de cães sorologicamente positivos para *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908), internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária, UFRGS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 8: 85-88.
 44. **Chaplin E.L., Silva N.R.S., Sebben J.C., Araújo F.A.P. & Mendez L.D.V. 1984.** Cadeia epidemiológica de toxoplasmose em Guaporé, RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 12: 25-34.
 45. **Chiari C.A., Lima J.D. & Antunes C.M.F. 1985.** Reação de imunofluorescência indireta e de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 37: 121-129.
 46. **Chiari C.A., Lima J.D., Lima W.S. & Antunes C.M.F. 1987.** Soro-epidemiologia da Toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 39: 587-609.
 47. **Ciacchi-Zanella J.R., Silva R.A.M.S., Dambrós R., Zanella E.L. & Bonassi C.A. 2001.** Mumificação fetal em suínos associados à toxoplasmose. *Embrapa suínos e Aves*, Concórdia, (271): 1-4.
 48. **Coelho R.A., Kobayashi M. & Carvalho Junior L.B. 2003.** Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 45: 229-231.
 49. **Correa F.M.A., Salata E. & Oliveira M.R. 1978.** *Toxoplasma gondii*: diagnóstico, pela prova de imunofluorescência indireta em suínos no estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*. 45: 209-212.
 50. **Costa A.J. & Costa E.P. 1978.** Frequência de bovinos reagentes à imunofluorescência indireta para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, MG, Brasil. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*. 30: 47-51.

51. **Costa A.J., Ávila F.A., Kasai N., Paulillo A.C. Silva M.B. & Galesco H. 1978.** Anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de bovinos do município de Jaboticabal; São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*. 45: 299-302.
52. **Costa A.J., Ishizuka M.M., Marques L.C., Vidotto O., Rocha U.F. & Ikeda A. 1986.** Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo State, Brazil. *ARS Veterinária*, 2: 75-79.
53. **Costa G.H.N., Cabral D.D., Varandas N.P., Sobral E. A., Borges F.A. & Castagnolli K.C. 2001.** Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. *Semina: Ciências Agrárias*. 22: 61-66.
54. **Costa T.L., Silva M.G., Rodrigues I.M.X., Barbaresco A.A., Avelino M.M. & Castro A.M. 2007.** Diagnóstico clínico e laboratorial da toxoplasmose. *Newsla*. 85: 88-104.
55. **Coutinho S.G., Lobo R. & Dutra G. 1982.** Isolation of *Toxoplasma* from the soil during na outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. *Journal of Parasitology*. 68: 866-868.
56. **Cruz M.A. 2007.** Soroprevalência anti -*Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1908) em gatos domésticos (*Felis catus* - LINNAEUS, 1758) de Curitiba, Paraná. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.
57. **Daguer H., Vicente R.T., Costa T., Hamann M.P.V. & Amendoeira M.R.R. 2004.** Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. *Ciência Rural*. 34: 1133-1137.
58. **D'angelino J.L. & Ischizuka M.M. 1986.** Toxoplasmose suína: Avaliação da prevalência de infecção toxoplásmica em rebanhos suínos pela prova de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. 100: 634 – 647.
59. **Dias R.A.F. & Freire R.L. 2005.** Surtos de toxoplasmose em seres humanos e animais. *Semina: Ciências Agrárias*. 6: 239-248.
60. **Dias R.A.F., Navarro I.T., Ruffolo B.B., Bugni F.M., Castro M.V. & Freire, R.L. 2005.** *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and soroprevalence in butchers from factiries in Londrina, Paraná State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 47: 185-189.
61. **Diniz E.M.A. & Vaz F.A.C. 2003.** Qual é a recomendação atual para o tratamento da toxoplasmose congênita. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 49:10.
62. **Domingues L.M., Machado R.Z., Costa A.J., Tinucci Costa M., Carvalho C.S., Costa A.J. & Malheiros E.B. 1998.** Canine toxoplasmosis: a comparative evaluation of the detectionof anti-*Toxoplasma gondii* antibodies by the indirect immunoenzymatic assay (ELISA) and the indirect immunofluorescence reaction (IIF). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 7: 79-85.
63. **Dubey, J.P. 1999.** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 84: 349-367.
64. **Dubey, J.P. 2005.** Toxoplasmosis in cats and dogs. *In: 30th World Small Animal Veterinary Association, México.* [Fonte:<http://www.vin.com/proceeding/Proceeding>.]
65. **Dubey, J.P. 1994.** Toxoplasmosis. *JAVMA*. 205:1593-1598.
66. **Dubey, J.P. 1987.** Toxoplasmosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 17: 1389-1404.

67. **Dubey J.P., Miller N.L. & Frenkel J.K. 1970.** Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *Journal Parasitology*. 56: 447-456.
68. **Dubey J.P., Kotula A.W., Sharar A., Andrews C.D. & Lindsay D.S. 1990.** Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *Journal of Parasitology*. 76: 201-204.
69. **Dubey J.P., Navarro I.T., Sreekumar C., Dahl E., Freire R.L., Kawabata H.H., Vianna M.C.B., Kwok O.C.H., Shen S.K., Thulliez P. & Lehmann T. 2004.** *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *Journal of Parasitology*. 90: 721-726.
70. **Dubey J.P., Navarro I.T., Graham D.H., Dahl E., Freire R.L., Prudêncio L.B., Sreekumar C., Vianna M.C. & Lehmann T. 2003.** Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 117: 229-234.
71. **Dubey J.P., Shen S.K., Kwok O.C. & Frenkel J.K. 1999.** Infection and immunity with the RH strain of *Toxoplasma gondii* in rats and mice. *Journal of Parasitology*. 85: 657-662.
72. **Duran F.P., Cabral D.D., Ferreira F.A., Silva D.A.O., Mineo J.R. & Souza M.A. 1997.** Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909), em cães clinicamente sadios da cidade de Uberlândia –MG. In: *I Congresso de Zoonoses* (Rio de Janeiro, Brasil). p. 228.
73. **El-Malky M., Shaohong L., Kumagai T., Yabu Y., Noureldin M.S., Saady N., Maruyama H. & Ohta N. 2005.** Protective effect of vaccination with *Toxoplasma* lysate antigen an CpG as an adjuvant against *Toxoplasma gondii* in susceptible C57BL/6 Mice. *Microbiology Immunology*. 49: 639-646.
74. **Escopelli, K.S. 2004.** Avaliação sorológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de ovinos da região da Grande Porto Alegre/RS, através das técnicas de Hemaglutinação Indireta (HAI) e Imunofluorescência Indireta (IFI). 86f. Porto Alegre – RS. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
75. **Faria E.B., Gennari S.M., Pena H.F.J., Athayde A.C.R., Silva M.L.C.R. & Azevedo S.S. 2007.** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Veterinary Parasitology*, 149: 126-129.
76. **Farrel R.L., Docton F.L., Chamberlain D.M. & Cole C.R. 1952.** Toxoplasmosis. *Toxoplasma* isolated from swine. *American Journal Veterinary Research*. 13: 181-184.
77. **Feldman H. & Miller L. 1956.** Serological study of toxoplasmosis prevalence. *American Journal of Hygiene*. 64: 320-335.
78. **Fernandes W.J. & Barbosa W. 1972.** Toxoplasmose - Notas sobre sua ocorrência em animais domésticos em Goiânia – (1970). *Revista de Patologia Tropical*. 1: 259-265.
79. **Fialho C.G. & Araujo F.A.P. 2003.** Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da Grande Porto Alegre-RS, Brasil. *Ciência Rural*. 33: 893-897.
80. **Figliuolo L.P.C., Kasai N., Ragozo A.M.A., De Paula V.S.O., Dias R.A., Souza S.L.P. & Gennari S.M. 2004.** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti - *Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 23: 161-166.

81. **Figliuolo L.P.C., Rodrigues A., Viana R., Aguiar D., Kasai N. & Gennari S.M. 2004.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats from São Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Research*. 55: 29-32.
82. **Figueiredo J.F., Cabral D.D. & Silva D.A.O. 1997.** Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos da região de Uberlândia, Minas Gerias. In: *XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária* (Gramado, Brasil). p. 193.
83. **Foulon W., Naessens A. & Ho-Yen D. 2000.** Prevention of congenital toxoplasmosis. *Journal of perinatal medicine*. 28: 337-343.
84. **Frazão-Teixeira E., Oliveira F.G.R., Pelissari-Sant'ana V. & Lopes C.W.G. 2006.** *Toxoplasma gondii* em encéfalos de suínos comercializados no município de Campos do Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 15: 33-36.
85. **Freire R.L., Giraldo N., Vidotto O. & Navarro I.T. 1995.** Levantamento soroepidemiológico da toxoplasmose em ovinos na região de Londrina, Paraná / Epidemiological study of ovine toxoplasmosis in Londrina region, Parana State, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 47: 609-612.
86. **Freire R.L., Navarro I.T., Bracarense A.P.F.R.L. & Gennari S.M. 2003.** Vaccination of pigs with *Toxoplasma gondii* antigens incorporated in immunostimulating complexes (iscoms). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 55: 388-396.
87. **Frenkel J.K. 1997.** Toxoplasmose. In: Veronesi, R. & Focaccia, R. *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Atheneu, 1803 p.
88. **Frenkel J.K., Dubey J.P. & Miller N.L. 1970.** *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stage identified as coccidian oocysts. *Science*. 167: 893-986.
89. **Freyre A., Choromanski L., Fishback J.L. & Popiel I. 1993.** Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites, and tachyzoites of the T-263 strain of *Toxoplasma gondii*. *Journal Parasitology*. 79: 716-719.
90. **Freyre A., Fálcon J., Méndez J., González M., Venzal J.M. & Morgades D. 2003.** Fetal *Toxoplasma* infection after oocyst inoculation of pregnant rats. *Parasitology Research*. 89: 352-353.
91. **Freyre A., Fálcon J., Méndez J., Rodriguez A., Correa L. & González M. 2006.** Refinement of the Mouse model of congenital toxoplasmosis. *Experimental Parasitology*. 113: 154-160.
92. **Fujii T.U., Kasai N., Vasconcellos S.A., Richtzenhain L.J., Cortez A., Souza S.L.P., Baruselli P.S., Nishi S.M., Ferreira F. & Gennari S.M. 2001.** Anticorpos anti-*Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da Região do Vale do Ribeira São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 68: 5-9.
93. **Garcia J.L., Navarro S.M., Navarro I.T., Machado R.Z., Senhorini I.L., Freire R.L., Marana R.M., Tsutsui V., Contente A.P.A. & Begale L.P. 2005.** Partial protection against tissue cysts formation in pigs vaccinated with crude rhoptry proteins of *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*. 129: 209-217.
94. **Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L. & Marana E.R.M. 2000.** Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*. 30: 123-127.
95. **Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L., Oliveira R.C. & Kobilka E. 1999.** Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural da Jaguapitã (Paraná), Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 6: 157-163.

96. **Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L. & Oliveira R.C. 1999.** Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*. 29: 99-104.
97. **Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L. & Oliveira R.C. 1999.** 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. *Ciência Rural*. 29: 91-97.
98. **Gazêta G.S., Dutra A.E.A., Norberg A.N., Serra-Freire N.M., Souza W.J.S., Amorin M. & Lopes L.M.S. 1997.** Short Communication: Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 6: 87-91.
99. **Germano P.M.L., Erbolato E.B. & Ishizuka M.M. 1985.** Estudo sorológico da toxoplasmose canina, pela prova de imunofluorescência indireta, na cidade de Campinas, 1981. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP*. 22: 53-58.
100. **Giovannoni, M. 1958.** Considerações sobre o *Toxoplasma* e a toxoplasmose. Isolamento do agente etiológico e pesquisa de anticorpos em cães. Curitiba - PR. 64f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Paraná.
101. **Gonçalez C.C. 2008.** Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães recolhidos das ruas e albergados em canil privado de Avaré-SP. 134f. Botucatu –SP. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista (UNESP).
102. **Gondim L.F.P., Barbosa H.V., Ribeiro Filho C.H.A. & Saeki H. 1999.** Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brasil. *Veterinary Parasitology*. 82: 273-276.
103. **Grünspan E.D. 1996.** Isolamento de *Toxoplasma gondii* em praça pública da cidade de Santa Maria, RS, Brasil. Santa Maria – RS. 68p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria.
104. **Grünspan E.D., Moreira W.S., Edelweiss M.I.A., Ulon S.N. & Daudt H.M.L. 1995.** Imunoglobulinas antitoxoplásmicas e retinocoroidite em suínos. *Ciência Rural*. 25: 261-264.
105. **Guimarães A.M., Ribeiro M.F.B., Lima J.D. & Almeida T.M.B. 1992.** Freqüência de anticorpos anti - *Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*. 44: 69-71.
106. **Guimarães A.M., Ribeiro M.F.B., Lima J.D., Cury M.C. & Spiewak G. 1992.** Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária*. 44: 67-68.
107. **Higa A.C., Machado R.Z., Tinucci-Costa M., Domingues L.M. & Malhueiros, E.B. 2000.** Evaluation of cross-reactivity of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antigens in dogs sera. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 9: 91-95.
108. **Hutchison W.M. 1967.** The nematode transmission of *Toxoplasma gondii*. *The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 61: 80-89.
109. **Ishizuka M.M. 1978.** Avaliação da freqüência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta em suínos de matadouro do município de São Paulo. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP*. 15: 151- 154.

110. **Ishizuka M.M. & Yasuda P.H. 1981.** Incidência de infecção por *Toxoplasma gondii* em cães do município de São Paulo. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.* 18: 161-165.
111. **Ishizuka M.M., Miguel O. & Brogliato D.F. 1974.** Estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos anti-*toxoplasma* em soros de cães. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.* 11: 127-132.
112. **Ito S., Tsunoda K., Tsutsumi Y., Matsui T., Nishikawa H., Iida T. & Sasaki Y. 1975.** Detection and confirmation of *Toxoplasma* oocysts in the soil. *Japanese Journal of Veterinary Science.* 37: 549-554.
113. **Kawazoe U. 2005.** *Toxoplasma gondii*. In: Neves, D.P. (Ed.) *Parasitologia Humana.* 11 ed., São Paulo: Atheneu, 494p.
114. **Lagaggio V.R.A., Flores M.L., Alves C.S.P., Silva D.C., Barcelos A.B., Katzer L.H., Barcelos A.S., Lazzarotto J.J., Cenci A. & Noal, S.A. 1997.** Hemaglutinação passiva para toxoplasmose em cães da região Central do RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 6: 342.
115. **Langoni H., Modolo J.R., Pezerico S.B., Silva R.C., Castro A.P.B., Silva A.V. & Padovani C.R. 2006.** Serological profile of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo State, Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.* 12: 142-148.
116. **Langoni H., Silva A.V., Cabral K.G., Cunha E.L.P. & Cutolo A.A. 2001.** Nota prévia. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.* 38: 243-244.
117. **Lappin M.R. 1994.** Toxoplasmosis felina. *Waltham focus.* 4: 2-8.
118. **Laranjeira N.L., Ishizuka M.M. & Hyakutaki S. 1985.** Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta no Mato Grosso do Sul, Brasil. *Boletim de la Oficina Sanitaria Panamericana.* 64: 58-61.
119. **Larsson L.E. 1980.** Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela Reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. *Revista de Saúde Pública.* 14: 582-588.
120. **Lazzarotto J.J., Lagaggio V.R.A., Barcelos A.S., Silva D.C. & Katzer L.H. 1997.** Estudo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em bovinos de leite do município de Santa Maria com caracterização parcial das propriedades investigadas. In: *IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino, Universidade Federal de Santa Maria-RS* (Santa Maria, Brasil). p. 727.
121. **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., Merinpeld E.G., Page F.C., Poljansky G., Sprague V., Vavra J. & Wallace F.G. 1980.** A newly revised classification of the Protozoa. *Journal Protozoology.* 27: 37-58.
122. **Levine N.D. 1985.** *Veterinary Protozoology.* Ames, Iowa State University Press, EUA.
123. **Lima J.N., Felício P.S., Franco P.M., Lara M.C.C.S., Cunha E.M.S., Quagliari D., Gomes L.O., Villalobos E.M.C. 2007.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) em suínos abatidos em matadouros no estado de São Paulo, SP, Brasil. *O Biológico.* 67: 25-51
124. **Lima J.T., Ahid S.M.M., Barreto Júnior R.A., Pena H.F.J., Dias R.A. & Gennari, S.M. 2008.** Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Brazilian Journal Research Animal Science.* 45: 81-86.

125. **Lindsay D.S., Dubey J.P., Butler J.M. & Blagburn B.L. 1997.** Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*. 73: 27-33.
126. **Lucas S.R.R., Hagiwara M.K., Loureiro V.S., Ikesaki J.Y. & Birgel E.H. 1999.** *Toxoplasma gondii* infection in Brazilian domestic outpatient cats. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 41: 221-224.
127. **Lucas S.R.R., Hagiwara M.K., Reche A. & Germano P.M. 1998.** Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em gatos infectados naturalmente pelo vírus da imunodeficiência dos felinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 35: 41-45.
128. **Machado T.M.M. & Lima J.D. 1987.** Frequência de anticorpos anti - *Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 39: 255-264.
129. **Maciel K.P. & Araujo F.A.P. 2004.** Inquérito sorológico para a detecção de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em caprinos (*Capra hircus*) criados nos municípios de Gravataí e Viamão, região da Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 3: 121-125.
130. **Macruz R., Oswaldo L., Ishizuka M.M., Omar M. & Cunha R.A.F. 1974.** Toxoplasmose em eqüinos PSI. In: *XIV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária* (São Paulo, Brasil). p 128.
131. **Mainardi R.S., Stachissini A.V.M., Langoni H., Padovani C.R. & Modolo J.R. 2000.** Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 9: 97-99.
132. **Marana E.R.M., Navarro I.T., Vidotto O., Freire R.L. & Lott R. 1994.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do Norte do Paraná - Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*. 15: 38-40.
133. **Marques L.C. & Costa A.J. 1982.** Infecção experimental de ovinos com oocistos e cistos de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909. In: *XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária* (Balneário Camboriú, Brasil). p. 202.
134. **Marques L.C., Costa A.J., Lopes C.W.G. & Neto J.C.L. 1998.** Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: clinical signs, parasitemia and immunological observations. *Semina: Ciências Agrárias*. 19: 45-49.
135. **Martins J.R. & Hancock R. 1991.** Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em ovinos do RS: prevalência e implicações epidemiológicas. In: *VII Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* (São Paulo, Brasil). 1: 1-6
136. **Martins J.R., Hancock R., Corrêa, B.L. & Caresér V.H. 1998.** Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em ovinos no município de Livramento, RS: prevalência e implicações epidemiológicas. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*. 4: 27-29.
137. **Matos M.P.C., Sobestiansky J., Gambarini M.L. & Caiado K.L. 1999.** Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia. *A Hora Veterinária*. 109: 9-11.
138. **Meireles L.R. 2001.** *Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo*. São Paulo – SP. 141p. SP. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Programa de Pós-Graduação em Biologia da relação Patógeno-Hospedeiro, Universidade de São Paulo.
139. **Meireles M.V., Paulillo A.C., Costa A.J., Moraes F.R., Ávila F.A. & Silva G.S. 1995.** Correlação entre *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium baileyi* em

- frangos de corte experimentalmente infectados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 4: 105-112.
140. **Mello V. 1910.** Un cas de toxoplasmose du chien observé à Turín. *Bulletin Society Pathology*. 28: 359-363.
141. **Mendez L.D.V. 1983.** *Prevalência de coccídios e anticorpos anti-toxoplásmicos em gatos domésticos de Porto Alegre-RS, Brasil*. Porto Alegre-RS. 38p. RS. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
142. **Mendonça A.O., Cerqueira E.J.L., Araújo W.N., Moraes-Silva E., Shimabukuru F.H., Sarkis D.T., Sherlock I. & Langoni H. 2001.** Inquérito sorológico para toxoplasmose em eqüídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*. 22: 115-118.
143. **Millar P.R., Dagher H., Vicente R.T., Costa T., Sobreiro L.G. & Amendoeira M.R.R. 2008.** *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28: 15-18.
144. **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. 2001.** Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. *Veterinary Parasitology*. 98: 239-245.
145. **Mineo T.W.P., Silva D.A.O., Näslund K., Jjörkman C., Uggla A. & Mineo J.R. 2004.** *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 56: 414-417.
146. **Montoya J.G. & Liesenfeld D.O. 2004.** Toxoplasmosis. *Lancet*. 363: 1965-1976.
147. **Moreno A.M., Linhares G.F.C., Sobestiansky J., Matos M.P.C. & Barcellos D. 2007.** *Doenças em Suínos*. In: Sobestiansky, J. & Barcellos, D. (Eds) 1Ed. Goiânia: Cãnone, 770p.
148. **Moura A.B., Osaki S.C., Zulpo D.L. & Marana E.R.M. 2007.** Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 16: 54-56.
149. **Navarro I.T., Freire R.L. & Passos J. 1994.** *Toxoplasma gondii*: animais envolvidos em surto de toxoplasmose humana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 27: 516.
150. **Navarro I.T., Freire R.L., Vidotto O., Ogawa L. & Kano F.S. 1997.** Estudo comparativo entre soros e plasma na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pela técnica de imunofluorescência em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina - PR. *Semina: Ciências Agrárias*. 18: 15-21.
151. **Navarro I.T., Lisboa J.A.N., Reichmann P., Freire R.L., Contente A.P.A., Marana E.R.M., Prado J.P., Prudencio L.B. & Tsutsui V.S. 2002.** Estudo soroepidemiológico de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos atendidos no hospital veterinário da Universidade estadual de Londrina-PR. In: *XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária* (Rio de Janeiro, Brasil). p.89.
152. **Navarro I.T., Vidotto O., Giraldi N. & Mitsuka R. 1992.** Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em lingüiça de suínos. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. 112: 138-143.
153. **Navarro I.T., Vidotto O., Silva A.C.B., Mitsukica R., Jankevinicius J.V., Shida P.N. & Cortês, J.A. 1998.** Comportamento Imunológico e antigênico de

- cinco amostras de *Toxoplasma gondii* inoculadas em gatos. *Ciência Rural*. 28: 453-459.
154. **Naves C.S., Ferreira F.A., Carvalho F.S.R. & Costa G.H.N. 2005.** Soroprevalência da toxoplasmose em equinos da raça Mangalarga Marchador no Município de Uberlândia, Minas Gerais. *Veterinária Notícias*. 11: 45-52.
155. **Neto V.A. & Marchi C.R. 1999.** Toxoplasmose. In: CIMERMAN B. & CIMERMAN S. (Eds) *Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais*. São Paulo: Atheneu, 375p.
156. **Netto E.G., Munhoz A.D., Albuquerque G.R., Lopes C.W.G. & Ferreira A.M.R. 2003.** Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 12: 145-149.
157. **Neves D.P. 2003.** Parasitologia dinâmica. São Paulo: Atheneu, 474p.
158. **Nicolle C. & Manceaux L. 1908.** Sur une infectio a corps de Leishmania (ou du organismes voisins) du gondi. *Comptes Rendus Academy Science*. 147: 763-766.
159. **Nicolle C. & Manceaux L. 1909.** Sur une protozoaire nouveau du gondii, *Toxoplasma*. Archives de L'institut *Pasteur de Tunis*. 2: 216-218.
160. **Nóbrega P., Trapp E. & Giovannoni M. 1955.** Toxoplasmose espontânea da galinha. *Arquivo do Instituto de Biologia*. 22: 43-49.
161. **Ogawa L., Freire R.L., Vidotto O., Gondim L.F.P. & Navarro I.T. 2005.** Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros da região norte do Estado do Paraná. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 57: 312-316.
162. **Ogawa L., Navarro I.T., Freire R.L., Oliveira R.C. & Vidotto O. 2003.** Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep. *Semina: Ciências Agrárias*. 24: 57-62.
163. **Oliveira F.C.R., Costa A.J. & Sabatini G.A. 2000.** Anticorpos em bovinos (*Bos indicus* e *Bos taurus*) e bubalinos (*Bubalus bubalis*) inoculados com oocistos de *Toxoplasma gondii*. Estudo comparativo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 52: 331-336.
164. **Oliveira L.L.S., Spagnol F.H., Medeiros S.M., Lopes C.W.G. & Albuquerque G.R. 2005.** Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos no matadouro municipal de Itabuna, Bahia. In: *11º Seminário de Iniciação Científica da UESC* (Florianópolis, Brasil). p. 125-126.
165. **Oliveira-Sequeira T.C.L., Amarante A.F.T., Salata E. & Sogayar R. 1993.** Serological survey for *Toxoplasma gondii* infection in sheep in São Paulo State, Brazil. *Veterinária e Zootecnia*. 5: 121-125.
166. **Passos J.N., Bonametti A.M. & Passos E.M. 1994.** Relato de um caso de toxoplasmose aguda com provável transmissão através do aleitamento materno. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 27: 516.
167. **Passos L.M.F. & Figueiredo B.L. 1984.** Determinação da infecção por *Toxoplasma gondii* em bovinos e suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais para se conhecer a freqüência de anticorpos e tentativa de isolamento a partir de músculos de bovino. In: *Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária* (Belém, Brasil). p. 378.
168. **Passos L.M.F., Lima J.D. & Figueiredo B.L. 1984.** Determinação da infecção por *Toxoplasma gondii* em bovinos abatidos em Belo Horizonte (MG) através da freqüência de anticorpos e tentativa de isolamento a partir de musculatura diafragmática. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 36: 581-589.

169. **Pena H.F.J., Soares R.M., Dubey J.P. & Gennari S.M. 2006.** *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo State, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Research in Veterinary Science*. 18: 58-67.
170. **Pereira I.C. 2005.** *Soro-prevalência de anticorpo para Toxoplasma gondii em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS*. Pelotas – RS. 99p. Dissertação (Mestrado em Veterinária). Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.
171. **Pescador C.A., Oliveira E.C., Pedroso P.M.O., Bandarra P.M., Okuda L.H., Corbellini L.G. & Driemeier D. 2007.** Perdas reprodutivas associadas com infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos no sul do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 27: 167-171.
172. **Pezerico G.P., Pezerico S.B., Silva R.C., Hoffmann J.L., Camargo L.B. & Langoni H. 2007.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira spp.* em suínos abatidos em três abatedouros dos estados de Minas Gerais e São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*. 74: 267-270.
173. **Pinto L.D. 2007.** *Soroepidemiologia do Toxoplasma gondii em felinos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil*. Porto Alegre – RS. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
174. **Pizzi H.L. 1997.** *Toxoplasmosis*. 1ed. Argentina: Rhône Poulenc Rorer Argentina, 91p.
175. **Porto W.J.N., Ribeiro T.C.E.S., Leite A.S., Alves L.C., Barbosa C.L., Mota R.A., Pereira G.C. & Carvalho Júnior G.M. 1999.** Freqüência de suínos sororeagentes para *Toxoplasma gondii* na região metropolitana do Recife. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária (Salvador, Brasil). p. 219.
176. **Powell C.C., Brewer M. & Lappin M.R. 2001.** Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. *Veterinary Parasitology*. 102: 29-33.
177. **Rago A.M.A., Azevedo S.S., Vasconcellos S.A., Batista C.S.A., Aguiar D.M., Rodrigues A.A.R., Alves C.J. & Gennari S.M. 2004.** *Toxoplasma gondii* em cães na cidade de Campina Grande, Paraíba: soroepidemiologia e fatores de risco. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária (Ouro Preto, Brasil). p.217.
178. **Reis C.R., Reis H.R., Gonçalves D.D., Lopes F.M.R., Carletti R.T., Silva M.F., Freire R.L. & Navarro I.T. 2004.** Levantamento sorológico da toxoplasmose em case de Bela Vista do Paraíso, Paraná, Brasil. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária (Ouro Preto, Brasil). p.211.
179. **Remington J.S. & Desmonts G. 1995.** Toxoplasmosis. In: Remington J.S & Klein J.O. (Eds) *Infectious diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1373 p.
180. **Romanelli P.P., Freire R.L., Vidotto O., Marana E.R.M., Ogawa L., De Paula V.S.O., Garcia J.L. & Navarro I.T. 2007.** Prevalência of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Research in Veterinary Science*. 82: 202-207.
181. **Rosa J.A., Buainain A. & Belda Neto F.M. 1986/1987.** *Toxoplasma gondii* em gatos da cidade de Araraquara-SP – Estudo sorológico e coproparasitológico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 8/9: 105-111.

182. **Rosa C., Langoni H., Silva A.V., Marinho M. & Listoni F.J.P. 1997.** Levantamento de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de ovinos no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 6: 334-337.
183. **Rosado I.R., Guimarães A.M. & Oliveira T.M.F.S. 2004.** Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães atendidos em clínicas veterinárias de Lavras, Minas Gerais. In: *XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária (Ouro Preto, Brasil)*. p.217.
184. **Santana L.F. 2007.** Toxoplasmose experimental em caprinos machos com ênfase no sistema reprodutor. 96f. Jaboticabal – SP. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Estadual de São Paulo.
185. **Santos S.M., Amaral V., Rebouças M.M. & Drumond L.S. 1983.** Anticorpos antitoxoplasma detectados por hemaglutinação indireta em soros de gatos domésticos provenientes da capital de São Paulo, Brasil. *O Biológico*. 49: 163-165.
186. **Santos S.M., Amaral V. & Rebouças M.M. 1978.** Prevalência de anticorpos antitoxoplasma, por hemaglutinação indireta, em soros de suínos provenientes de diferentes municípios do estado de São Paulo. *O Biológico*. 44: 149-153.
187. **Schenk M.A.M., Lima J.D. & Viana F.C. 1976.** Frequência e isolamento de *Toxoplasma gondii* em suínos do Estado de Minas Gerais. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*. 28: 261-266.
188. **Sella M.Z., Navarro I.T., Vidotto O., Freire R.L. & Shida P.N. 1994.** Epidemiologia da toxoplasmose caprina: levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na micro região de Londrina, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 3: 13-16.
189. **Serra-Freire N.M., Norberg A.N. & Gazeta G.S. 1994.** Toxoplasmose caprina no Rio de Janeiro. *Parasitologia al Día*, 18: 77-81.
190. **Silva A. V., Cunha E.L.P. & Meireles L.R. 2003.** Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo sorológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. *Ciência Rural*. 33: 115-119.
191. **Silva A.V., Cutolo A.A. & Langoni H. 2002.** Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. *Arquivos do Instituto Biológico*. 69: 7-11.
192. **Silva A.V. & Langoni H. 2000.** Alimentos de origem animal e a toxoplasmose humana. *Higiene Alimentar*. 14: 34-39.
193. **Silva A.V. & Langoni H. 2001.** The detection of *Toxoplasma gondii* by comparing cytology, histopathology, bioassay in mice and the polymerase chain reaction (PCR). *Veterinary Parasitology*. 97: 191-198.
194. **Silva D.A.O., Cabral D.D., Bernardina B.L.D., Souza M.A. & Mineo J.R. 1997.** Detection of *Toxoplasma gondii*-specific antibodies in dogs. A comparative study of immunoenzymatic, immunofluorescent and haemagglutination titers. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 92: 785-789.
195. **Silva D.A.O., Silva N.M., Mineo T.W.P., Pajuaba Neto A., Ferro E.A.V. & Mineo J.R. 2002.** Heterologous antibodies to evaluate the kinetics of the humoral immune response in dogs experimentally infected with *Toxoplasma gondii* RH strain. *Veterinary Parasitology*. 107: 181-195.
196. **Silva J.C.R., Gennari S.M., Ragozo A.M.A., Amajones V.R., Magnabosco C., Yai L.E.O., Ferreira-Neto J.S. & Dubey, J.P. 2002.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic cats from Guarulhos and São Paulo, Brasil. *Journal Parasitology*. 88: 419-420.

197. **Silva J.M.L. 1959.** Sobre um caso de Toxoplasmose espontânea em suínos. *Arquivos da Escola Superior de Veterinária*. 12: 425-428.
198. **Silva K.L.M.V. 2001.** Análise de transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em ovinos em duas propriedades no município de Rosário de Sul. Santa Maria - RS. 16f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria.
199. **Silva K.L.M.V. & Rue M.L. 2006.** Possibilidade de transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* em ovinos através de seguimento sorológico no município de Rosário do Sul, RS, Brasil. *Ciência Rural*. 36: 892-897.
200. **Silva N.R.S., Chaplin E.L., Araujo, F.A.P. & Mendez L.D.V. 1982/83.** Freqüência de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em soros de bovinos de leite da Grande Porto Alegre, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 10-11: 81-84.
201. **Silva N.R.S., Chaplin E.L., Araujo F.A.P. & Pereira R.A.P. 1981.** Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de eqüinos no município de Porto Alegre, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 9: 105-107.
202. **Silva N.R.S., Chaplin E.L., Mendez L.D.V. & Araújo F.A.P. 1981.** Determinação de anticorpos toxoplásmicos em soros de suínos obtidos em matadouros, na região do Alto Taquarí, RS, Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 9: 33-38.
203. **Silva N.R.S., Costa A.J., Chaplin E.L. & Souza, S.M.G. 1981.** Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de ovinos, pela reação de imunofluorescência indireta (IFI), na região de Guaíba, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 9: 101-104.
204. **Silva N.R.S., Costa A.J. & Souza S.M.G. 1980.** Prevalência de anticorpos antitoxoplásmicos em ovinos, determinada pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), no município de São Lourenço do Sul, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 8: 89-92.
205. **Silveira C. 2001.** Toxoplasmose – Levantamento bibliográfico de 1997-2000. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 64: 263-270.
206. **Sogorb F., Jamra L.F., Guimarães E.C. & Deane M.P. 1972.** Toxoplasmose espontânea em animais domésticos e silvestres em São Paulo. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 14: 314-320.
207. **Souza L.M., Nascimento A.A., Furuta P.I., Basso L.M.S., Silveira D.M. & Costa A.J. 2001.** Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*. 22: 39-48.
208. **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. 2003.** Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 12: 1-3.
209. **Souza S.L.P., Ragozo A.M.A., Guimarães J.S., Ferreira F. & Gennari S.M. 2001.** Prevalência de anticorpos anti-T. *gondii* em cães de propriedades produtoras de leite B da região Norte do Estado do Paraná. *Jornal Brasileiro de Patologia*. 37: 46.
210. **Souza W.J.S. 1995.** Epidemiologia da toxoplasmose: avaliação sorológica de suínos e trabalhadores em abatedouros na mesorregião do Grande Rio de Janeiro. 125f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz.

211. **Souza W.J.S., Andrade D.P.M., Furtado A.C., Neta M.B.F., Juvenal M.F., Berco S.P.S., Fernandes C.G.N. & Moura S.T. 2001.** Frequência de toxoplasmose canina em Mato Grosso - Cuiabá, Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia*. 37: 257.
212. **Splendore A. 1908.** Um nuovo protozoo parassita de' conigli – incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti il kala-azar dell'uomo. *Revista da Sociedade de Sciencias*. 3: 109-112.
213. **Suárez F., Andrade H. & Galisteo A. 1999.** Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suinos mediante la prueba de ELISA. *Revista de Investigaciones del Perú*, [Fonte: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v10_n1/vtoxoplasma.htm]
214. **Swango L.J., Bankemper K.W. & Kong L.I. 1992.** Infecções bacterianas, riquetsias, protozoais, e outras. In: Ettinger, S.J. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*, 3ed. São Paulo: Manole, 2557p.
215. **Tsutsui V.S., Freire R.L., Garcia J.L., Gennari S.M., Vieira D.P., Marana E.R.M., Prudêncio L.B. & Navarro I.T. 2007.** Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in commercial cuts of pork from experimentally infected pigs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59: 30-34.
216. **Tsutsui V.S., Prudencio L.B., Contente A.P.A., Freire R.L., Navarro I.T., Marana E.R.M., Delbem A.C.B. & Stellatto R.A. 2001.** Estudo soroepidemiológico e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em granjas de suínos do norte do Estado do Paraná. *Jornal Brasileiro de Patologia*. 37: 255.
217. **Ueno T.E.H. 2005.** Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil. 107f. São Paulo, SP. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental e aplicada as zoonoses) - Programa de Pós-graduação Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses, Universidade de São Paulo.
218. **Ulton S.N. 1996.** Inquérito sorológico de infecção toxoplásmica em ovinos abatidos em Santa Maria, RS, e sua repercussão na saúde pública. Santa Maria -RS. 78f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria.
219. **Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L. & Jennings, F.W. 1998.** *Parasitologia Veterinária*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 273p.
220. **Uzêda R.S., Fernández S.Y., Jesus E.E.V., Pinheiro A.M., Ayres M.C.C., Spinola S., Barbosa Junior H.V. & Almeida M.A.O. 2004.** Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado de Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 5: 1-8.
221. **Varandas N.P., Rached P.A., Costa G.H.N., Souza L.M., Castagnolli K.C. & Costa A.J. 2001.** Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região nordeste do estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. *Semina: Ciências Agrárias*. 22: 105-111.
222. **Vargas C.S.G. 2006.** Títulos de anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) e de oocistos em fezes de gatos de rua (*Felis catus*- LINNAEUS, 1758) EM Curitiba, Paraná. Curitiba – PR. 66f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal do Paraná.
223. **Vasconcelos O.T., Costa A.J. & Ávila F.A. 1979.** Aspectos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos. *Científica*. 7: 83-87.
224. **Villalobos E.M.C., Cunha E.M.S., Lara M.C.C.S.H. & Soares R.M. 2005.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de equídeos oriundos de

- propriedades da região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo e abatidos em matadouro no Estado do Paraná. In: 18ª Reunião anual do Instituto Biológico (São Paulo, Brasil). p.45-47.
225. **Vidotto O. 1992.** Toxoplasmose: epidemiologia e importância da doença na saúde animal. *Semina: Ciências Agrárias*.13: 69-75.
226. **Vidotto O., Costa A.J., Reis A.C.F. & Viotti N.M.A. 1987.** Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. III. Alterações patológicas e reisolamento. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 39: 795-814.
227. **Vidotto O., Kano F.S., Freire R.L., Mitisuka R., Ogawa L., Bonesi G., Navarro I.T. & Franciscan F.S.G. 1997.** Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos procedentes de 4 estados (SP, PR, MS, MT) abatidos em Apucarana no Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*. 18: 9-13.
228. **Vidotto O., Navarro O., Moco C.A., Pincelli C.A. & Nishimura M.F.C. 1986.** Prevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos em matadouros no Norte do Paraná. In: *II Encontro de Pesquisas Veterinárias* (Londrina Brasil). p. 23.
229. **Vidotto O., Navarro I.T., Giraldi N., Mitsuka R. & Freire R.L. 1990.** Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina – PR. *Semina: Ciências Agrárias*. 11: 53-59.
230. **Wentz I., Sobestiansky J. & Chaplin E. 1988.** Prevalência de anticorpos para toxoplasmose em soros de suínos de pedigree em Santa Catarina. *Embrapa*. Comunicado Técnico, 3p.
231. **Zonta J.C., Araujo F.A.P., Stobbe, N.S., Chaplin E.L & Silva N.R.S. 1987.** Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em ovinos de Marau e de Uruguaiana, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 15/16: 59-61.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)