

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA



Dissertação

**CARACTERIZAÇÃO BIOPATOLÓGICA DE *Toxoplasma gondii* ISOLADAS
DE SUÍNOS NO SUL DO BRASIL**

Plínio Aguiar de Oliveira

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:

Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901

Biblioteca de Ciência e Tecnologia – UFPel

O48cOliveira, Plínio Aguiar de

Caracterização biopatológica de *Toxoplasma gondii* isoladas de suínos no sul do Brasil/ Plínio Aguiar de Oliveira. – 48f.– Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2014. – Orientador Nara Amélia da Rosa Farias ;co-orientador Felipe Geraldo Pappen.

1.Toxoplasmose. 2.*Toxoplasma gondii*.3.Patogenicidade. 4.Virulência. I.Farias, Nara Amélia da Rosa.II.Pappen, Felipe Geraldo.III.Título.

CDD: 636.0896072

Plínio Aguiar de Oliveira

**CARACTERIZAÇÃO BIOPATOLÓGICA DE CEPAS *Toxoplasma gondii*
ISOLADAS DE SUÍNOS NO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Parasitologia da Universidade
Federal de Pelotas, como requisito
parcial à obtenção do título de
Mestre em Ciências (área de
conhecimento: Parasitologia).

Orientador: Prof^a. Dr^a. Nara Amélia da Rosa Farias
Co-orientador: Prof. Dr. Felipe Geraldo Pappen

Pelotas, 2014

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Nara Amélia da Rosa Farias

Orientadora e Presidente da Comissão

Professor Dr. Fábio Pereira Leivas Leite

Membro da Comissão

Professor Dr. Leandro Quintana Nizoli

Membro da Comissão

Dr. Jerônimo Lopes Ruas

Membro da Comissão

Professor Dr. Marcos Marreiro Villela – Suplente

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades.

Muitos perpassam não só as entrelinhas deste trabalho, mas em todas as minhas atitudes e escolhas, fundamentais para estar onde estou. Portanto não quero tão somente agradecer como apregoam os ditames formais, mas sim dividir esta conquista com todos que tornaram este trabalho possível. Desta forma remeto-me:

Aos meus pais, Estaél Aguiar de Oliveira e Paulo Roberto Garcia de Oliveira, incondicionais.

A minha noiva, Ana Carolina Barreto Coelho, companheira.

A minha família, sempre presente.

Aos meus amigos, fortes esteios.

Aos professores, essenciais na minha formação profissional e pessoal.

Ao grupo do Laboratório de Parasitologia, meus propulsores nos setores acadêmicos e profissionais. Em especial a Dra. Nara Amélia Farias, orientadora, amiga. Dr. Felipe Geraldo Pappen, co-orientador, amigo e irmão. Dr. Jerônimo Lopes Ruas, maestro, amigo, parceiro. Dr. Nilton da Cunha Filho, Msc. Cíntia Guidotti Aguiar e Fernando Caetano de Oliveira eternos amigos. Às colegas Msc. Laura De Faria Santos e Msc. Beatris Gonzales Cademartori, incansáveis durante esta jornada.

A equipe do Biotério Central da UFPel, que nos acolheu desde o primeiro momento.

A equipe do Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária, amigos e colaboradores.

A Universidade Federal de Pelotas, pelo ensino de qualidade.

A todos aqueles, que mesmo sem saber, serviram-me de exemplo algum dia, ao cruzar minha estrada.

Nenhuma luta haverá jamais de me embrutecer, nenhum cotidiano será tão pesado a ponto de me esmagar, nenhuma carga me fará baixar a cabeça.
Quero ser diferente, eu sou, e se não for, me farei.”
(Caio F. Abreu)

RESUMO

OLIVEIRA, PLÍNIO AGUIAR DE. **Caracterização biopatológica de *Toxoplasma gondii* isoladas de suínos no sul do Brasil**. 2014. p.48 Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

Estudos com *Toxoplasma gondii* em suínos são relevantes porque seus produtos e subprodutos fazem parte da cadeia alimentar do ser humano, podendo o consumo de carnes cruas ou mal cozidas destes animais ser uma das principais fontes de infecção. Este trabalho teve por objetivo caracterizar, quanto à patogenicidade e virulência de *T. gondii* em camundongos suíços albinos, isolados de suínos de criação artesanal. Sangue, coração e cérebro de 12 suínos, de seis diferentes municípios da região sul do RS, foram coletados logo após o abate. Os soros foram examinados para detecção de anticorpos IgG para *T. gondii* através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e os órgãos dos soropositivos (8/12) utilizados para bioensaios em grupos de cinco camundongos, obtendo-se uma taxa de isolamento do parasito de 75% (6/8). Os isolados que produziram ascite (3/6) foram reinoculados em concentrações de 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 e 10^1 . Os outros três somente causaram infecção crônica. Ao total foram acompanhados 21 grupos de camundongos, dentre os quais 42,85% (9/21) apresentaram 100% de morbidade e, destes, 38% (8/21) atingiram 100% de mortalidade. O menor inóculo capaz de causar morbidade e letalidade foi de 10^3 taquizoítos. O exame histológico dos órgãos dos camundongos inoculados revelou a presença de estruturas morfológicamente compatíveis com cistos de *T. gondii* em 52,4% (11/21) das amostras, sendo: 23,8% (5/21) no pulmão e fígado, 4,8% (1/21) no pulmão, fígado e encéfalo, 19% (4/21) no pulmão e 4,8% (1/21) no fígado. Todos os isolados foram cistogênicos, embora não neurotróficos, mesmo aqueles que apresentaram características da toxoplasmose aguda. Os resultados deste estudo revelam a presença de cepas patogênicas e virulentas de *T. gondii* na região estudada, e o risco que o consumo da carne suína proveniente de criação artesanal pode representar para a saúde humana.

Palavras-chave: Toxoplasmose, patogenicidade, virulência.

ABSTRACT

OLIVEIRA, PLÍNIO AGUIAR DE. **Biopatologic characterization of *Toxoplasma gondii* isolated from pigs in southern Brazil.** 2014. p.48
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Parasitologia,
Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

Studies with *Toxoplasma gondii* in pigs are important because their products and by-products are part of the human food chain, allowing the consumption of raw or undercooked meat of these animals is the major source of human infection. This study aimed to characterize the virulence and pathogenic of *T. gondii* strains isolates from rustic farm handling breeding, inoculated in swiss albino mice. Blood, heart and brain of 12 pigs of six different districts in the southern region of RS were collected during the domestic slaughter. The serum was analyzed by indirect immunofluorescence (IFA) and the seropositive (8/12) used for bioassays in groups of five mice, where it is obtained an isolation rate of 75% (6/8). The isolates that produced ascites (3/6) were reinoculated at concentrations of 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 e 10^1 . The other three isolates only chronic infection. In total 21 groups of mice was studied and 42.85% (9/21) showed 100% of morbidity, among which 38% (8/21) achieved 100% of mortality. The smaller inoculum that can cause morbidity and mortality was the 10^3 tachyzoites concentration. Histological techniques showed the presence of morphological structures compatible with *T. gondii* cysts in 52.4% (11/21) of samples, with 23.8% (5/21) in lung and liver, 4.8% (1/21) in the lung, liver and brain, 19% (4 / 21) in lung and 4.8% (1/21) in the liver. All isolates were formed cyst, even those that were characteristic of acute toxoplasmosis. The results of this study warn of the risk of infection by ingest infected animal's tissues with *T. gondii*.

Keywords: Toxoplasmosis, pathogenicity, virulence.

Lista de tabelas – Artigo

Quadro 1	Frequência dos sinais clínicos verificados em camundongos inoculados com <i>T. gondii</i> de três diferentes isolados de suínos naturalmente infectados, do sul do RS.....	46
Quadro 2	Evolução clínica, da infecção por <i>T. gondii</i> em camundongos a partir de três diferentes isolados de suínos, segundo o inóculo	46
Quadro 3	Alterações patológicas e presença de cistos em órgãos de camundongos inoculados com <i>T. gondii</i> isolados de suínos soropositivos para <i>T. gondii</i>	47

SUMÁRIO

1 Introdução.....	9
2 Revisão Bibliográfica.....	11
2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	11
2.1.2 Histórico.....	11
2.1.3 Taxonomia	12
2.1.4 Ciclo Biológico do parasita	13
2.1.5 Vias de transmissão e fatores de risco	15
2.1.6 <i>Toxoplasma gondii</i> no hospedeiro definitivo	17
2.1.7 <i>Toxoplasma gondii</i> no hospedeiro intermediário	18
2.1.8 <i>Toxoplasma gondii</i> em humanos.....	18
2.1.9 <i>Toxoplasma gondii</i> em suínos	19
2.1.10 Patogenicidade e Virulência do <i>Toxoplasma gondii</i>	21
3 Objetivos	25
3.1 Geral	25
3.2 Específico	25
4 Referências	26
5 Artigo: Patogenicidade e Virulência de <i>Toxoplasma gondii</i> isolado de suínos de criação artesanal do sul do Brasil.....	38
Abstract.....	39
Resumo	39
Introdução.....	39
Material e Métodos	40
Resultados	41
Discussão	42
Referências	43
6. Conclusões Gerais.....	48

1 Introdução

Zoonose parasitária de distribuição mundial, a toxoplasmose é causada pelo protozoário intracelular obrigatório, *Toxoplasma gondii* (DUBEY; JONES, 2008). A enfermidade está relacionada ao consumo de carne crua ou mal cozida contendo cistos, ou à ingestão de água, verduras e legumes contaminados por oocistos esporulados. Também pode ocorrer transmissão transplacentária, via transfusões sanguíneas e transplantes de órgãos (DUBEY, 2010).

T. gondii é capaz de infectar mamíferos, aves, peixes e moluscos (SMITH; REDUCK, 2000; CONRAD, 2005), podendo causar doença congênita e abortos no homem e animais domésticos (DUBEY; BEATTIE, 1988; REMINGTON; DESMONTS, 1990). É estimado que o agente parasito infecte cronicamente um terço da população humana (LAMBERT; BARRAGAN, 2010).

Em indivíduos imunocompetentes (incluindo crianças e mulheres grávidas) aproximadamente 90% dos casos de infecção por *T. gondii* não cursam com alterações clínicas. Em aproximadamente 10% dos casos surgem sintomas pouco específicos que raramente necessitam de tratamento (MONTROYA; LIESENFELD, 2004). Entretanto, se a primoinfecção materna ocorrer durante a gestação, o parasito pode invadir a circulação fetal, levando ao quadro de toxoplasmose congênita, com consequências ao feto, como aborto, morte neonatal e anomalias fetais (GAGNE, 2001).

No caso de uma primoinfecção em indivíduo imunocomprometido, a toxoplasmose geralmente apresenta-se sobre a forma de doença pulmonar e encefalite difusa (LUFT, 1989). A encefalite toxoplásmica e a toxoplasmose disseminada têm sido observadas em indivíduos imunocomprometidos por transplante de órgãos ou medula, câncer, terapia imunossupressora, bem como em pacientes com a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), nos quais ocorre grave encefalite toxoplásmica em cerca de 40% dos casos (LUFT, 1989).

Todas as formas conhecidas de *T. gondii* são possíveis de serem estudadas, porém com algumas limitações. Embora os oocistos possam ser detectados por métodos de concentração nas fezes contaminadas, não podem ser distinguidos morfológicamente dos oocistos de pelo menos outros quatro

coccídeos (*Hammondia hammondi*, *H. heydorni*, *Neospora caninum*, *Besnoitia* sp.) e tornam necessário a realização de bioensaio em camundongos para a confirmação da espécie parasita envolvida (DUBEY, 2004).

Por possuírem hábitos geofágicos, as aves, principalmente galinhas criadas livres, têm sido utilizadas como indicadoras da contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*, além disso, as mesmas podem ter papel como transmissoras do agente ao homem (DUBEY, 2005).

Os suínos também são hospedeiros intermediários com grande importância para a manutenção de *T. gondii* na natureza, devido ao grande percentual de cistos viáveis na carne e ao seu hábito onívoro (KIJLSTRA; JONGERT, 2008). Nas criações artesanais, a possível ingestão de roedores, pássaros, vísceras provenientes de abate doméstico e alimentos ou água contaminados com fezes de felídeos, aumentam o risco de infecção (DUBEY, 2009).

A carne suína, entre os alimentos de origem animal, é uma das principais fontes de infecção humana por *T. gondii* em vários países (DUBEY, 2009; SILVA, 2010). No sul do Brasil o consumo desta carne e embutidos feitos artesanalmente é elevado, o que pode representar uma fonte de infecção humana pelo protozoário (DIAS, 2005; SPALDING, 2005; ALMEIDA, 2006).

O isolamento e posterior avaliação de cepas de *T. gondii* a partir de suínos naturalmente infectados, permitem que seja estimado o risco a que humanos e animais de determinada região estão expostos. No presente trabalho, foi realizado o isolamento do parasito de suínos de criação artesanal, naturalmente infectados, por meio da inoculação em camundongos, com posterior avaliação das características biopatológicas dos diferentes isolados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Toxoplasma gondii* (Nicolle; Manceaux, 1909)

2.1.2 Histórico

O primeiro relato de *Toxoplasma gondii* foi feito em 1908, por Nicolle e Manceaux, em roedor (*Ctenodactylus gundi*) na Tunísia. Neste mesmo ano, na cidade brasileira de São Paulo, Splendore encontrou o parasito em um coelho. O agente foi considerado inicialmente, como pertencente ao gênero *Leishmania*, mas em 1909 foi caracterizado por Nicole e Manceaux como uma nova espécie, *Toxoplasma gondii* (Nicolle; Manceaux, 1909).

O primeiro caso de toxoplasmose humana foi descrito por Castellani em 1913 (FIALHO, 2002), em um menino com quadro febril e com esplenomegalia (PIZZI, 1997).

Em 1928, Levaditi et al. descreveram pela primeira vez a presença de cistos teciduais como estágio persistente em hospedeiros intermediários.

Entre os anos de 1937 e 1939, *T. gondii* foi reconhecido como agente causador de encefalomielite em neonatos humanos, sendo determinada uma tríade clássica de sintomas da toxoplasmose congênita: retinocoroidite, hidrocefalia e encefalite seguida de calcificação cerebral (WOLF; COWEN, 1937; WOLF, 1939).

Em 1940, foi descrito o primeiro caso fatal de toxoplasmose disseminada em um humano adulto (PINKERTON; WEINMAN, 1940).

O primeiro teste para detecção de anticorpos para *T. gondii* foi o azul de metileno “dye test”, desenvolvido por Sabin e Feldman em 1948. O agente foi reconhecido como causa de linfadenopatia em humanos em 1951-1952 (GARD; MAGNUSSON, 1951; SIIM, 1952).

Em 1952 foi descrita uma tétrade de sintomas da toxoplasmose congênita em humanos (retinocoroidite, hidrocefalia ou microcefalia, encefalite seguida de calcificação cerebral e distúrbios psicomotores) (SABIN, 1952).

Ainda em 1952 a infecção por *T. gondii* foi reportada pela primeira vez em suínos, nos Estados Unidos (FARREL, 1952). A primeira citação de toxoplasmose em suínos, no Brasil, foi feita no Estado de Minas Gerais (SILVA, 1959).

As primeiras hipóteses sobre a possibilidade de transmissão horizontal através de cistos teciduais de carnes cruas de suínos ocorreram entre os anos de 1954 a 1956, (WEINMAN; CHANDLER, 1954; WEINMAN, CHANDLER, 1956; BEATTIE, 1982). Tal hipótese foi confirmada em 1960, esclarecendo o significado epidemiológico da forma cística do *T. gondii*, sendo evidenciada a importância das carnes de animais, insuficientemente cozidas, como fonte de infecção para os humanos (JACOBS, 1960).

Em 1959 foi verificada, sorologicamente, a positividade para *T. gondii* em pessoas vegetarianas (RAWAL, 1959). Seis anos mais tarde, foi levantada a hipótese de que uma fase infectante seria liberada no meio ambiente através das fezes dos gatos (HUTCHISON, 1965).

Hutchison e colaboradores identificaram os oocistos em 1969. No mesmo ano foi demonstrada a presença do parasito em diafragmas de 25 suínos aparentemente normais (AMARAL; MACRUZ, 1969).

Em 1970 foi verificada a fase sexual do ciclo de vida no intestino delgado de gatos (DUBEY, 1970; FRENKEL, 1970). A confirmação do felino como hospedeiro definitivo de *T. gondii* ocorreu entre os anos de 1970 e 1971 (FRENKEL, 1970; HUTCHISON, 1971).

2.1.3 Taxonomia

Segundo Levine (1980), *Toxoplasma gondii* é classificado como:

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoa

Sub-classe: Coccidea

Ordem: Eucoccidiida

Sub-ordem: Eimeriina

Família: Sarcocystidae

Sub-família: Toxoplasmatinae

Gênero: *Toxoplasma*

Espécie: *T. gondii* (Nicolle; Manceaux, 1909)

2.1.4 Ciclo biológico do parasito

Toxoplasma gondii, parasito intracelular obrigatório, acomete principalmente o homem, outras espécies de mamíferos, aves, peixes e moluscos (DUBEY; BEATTIE, 1988; DUBEY, 2009), causando uma das infecções parasitárias mais comuns no mundo (MONTROYA; LIESENFIELD 2004). *T. gondii* é um protozoário com morfologia variada, conforme seu habitat e estágio evolutivo (AMENDOEIRA, 1999), podendo ser encontrado nas formas de: taquizoítos, bradizoítos contidos em cistos teciduais e esporozoítos em oocistos esporulados. As três formas são os estágios infectantes no ciclo de vida do agente, tanto para os hospedeiros intermediários, quanto para os definitivos (DUBEY, 2010).

Produzidos no epitélio intestinal dos felídeos, as formas imaturas são os oocistos, não esporulados, que são eliminadas, com as fezes, para o meio ambiente. Estruturalmente arredondados, possuem membrana externa dupla, responsável por sua resistência às condições adversas do meio ambiente. Passam a apresentar, em seu interior, quatro esporozoítos dentro de cada um dos dois esporocistos, após a sua evolução (esporulação) no meio ambiente, em período que depende das condições de temperatura e umidade (DUBEY, 2009).

Os taquizoítos apresentam forma alongada, ligeiramente arqueada, com extremidade anterior mais afilada que a posterior (DUBREMETZ, 2012), sendo a forma característica da fase aguda. São formas de multiplicação rápida, encontradas no interior de várias células nucleadas. A multiplicação ocorre por sucessivas endodiogenias, dentro de vacúolos parasitóforos, formados pela célula hospedeira (BARRAGAN; HITZIGER, 2008).

Bradizoítos, característicos da fase crônica da infecção, são encontrados, geralmente, no interior de cistos teciduais no organismo do hospedeiro (DUBEY, 1998). Os cistos com bradizoítos podem ser encontrados no tecido nervoso, muscular esquelético e cardíaco, assim como na retina (HILL; DUBEY, 2002). Os taquizoítos e bradizoítos desenvolvem-se em quase todas as células e tecidos de grande variedade de hospedeiros, o que torna *T. gondii* um dos parasitos de menor especificidade.

Sob a forma de taquizoíto, *T. gondii* pode atravessar ativamente barreiras biológicas como epitélios intestinais e placentários. Pode, ainda,

invadir células sanguíneas nucleadas circulantes, como macrófagos e células dendríticas, e nestas conseguem atravessar a barreira hematoencefálica, atingindo o cérebro e formando cistos teciduais (CARRUTHERS; SUZUKI, 2007).

O ciclo de vida deste protozoário é heteroxeno facultativo, sendo os membros da família Felidae os hospedeiros definitivos. Heckeroth e Weiss (2000) relataram uma evidência epidemiológica dessa afirmação, pela inexistência virtual de infecções por esse agente em animais de ilhotas e atóis nunca habitados por gatos.

Nos hospedeiros intermediários (aves, répteis, peixes, anfíbios e mamíferos, incluindo o homem), ocorre a fase assexuada da reprodução, enquanto que nos felídeos ocorre primeiramente uma fase assexuada seguida por uma fase sexuada de reprodução, esta ocorrendo exclusivamente no epitélio intestinal dos animais desta família (DUBEY, 2004). Além disso, os animais da família Felidae podem se comportar como hospedeiros intermediários no ciclo (DUBEY; BEATTIE, 1988).

Quando o cisto é ingerido, no sistema digestivo do hospedeiro, ocorre a digestão da parede do mesmo, ou seja, ela rompe e ocasiona a liberação dos bradizoítos, que, instantaneamente, procuram uma célula para penetrar, se modificaram para a forma de taquizoíto, e espalham-se para os demais tecidos (DUBEY; FRENKEL, 1976). Durante este período, o sistema imune forma anticorpos específicos e ativam desenvolvimento de mecanismos imunes celulares que atuam contra o agente extracelular. Somente os bradizoítos persistem e são responsáveis pela manutenção de títulos sorológicos que podem durar por toda vida do hospedeiro (BIANCHI, 2005).

Se a ingestão ocorrer pelo hospedeiro definitivo que é o felídeo, o processo é diferente: as formas infectantes invadem o epitélio intestinal, originam merontes, merozoítos e, posteriormente, gametas masculinos e femininos, que originarão o zigoto. O zigoto maduro rompe a célula do epitélio intestinal, sendo liberado na luz do intestino, quando então passa a ser denominado oocisto, que irá ao exterior com as fezes do hospedeiro definitivo (DUBEY; MORALES; LEHMANN, 2004).

2.1.5 Vias de transmissão e fatores de risco

A transmissão pode ocorrer de forma horizontal, pela ingestão de formas infectantes (oocistos esporulados, bradizoítos em cistos, ou taquizoítos) e pela forma vertical, pela passagem de taquizoítos, da mãe para feto (BLANDER; SAEIJ, 2009). Os humanos e os animais podem adquirir a infecção por qualquer dessas formas do ciclo de vida do parasito, ou ainda, a partir de produtos sanguíneos, nos transplantes de órgãos (KIJLSTRA; JONGERT, 2009).

Após o nascimento, o homem infecta-se, principalmente, pela ingestão de oocistos esporulados encontrados no meio-ambiente, ou pela ingestão de cistos teciduais em carne crua ou mal cozida de hospedeiros intermediários. A variação da prevalência parece ser devida a fatores climáticos, geográficos, hábitos alimentares, tipo de trabalho e hábitos culturais, indicando a ocorrência de todos os mecanismos de transmissão (TENTER, 2009).

A transmissão fecal-oral ocorre na ingestão de oocistos esporulados do agente com água ou alimentos. Altas taxas de soroprevalência em grupos de vegetarianos restritos podem ser explicadas pela contaminação tanto da água quanto dos vegetais, com oocistos de *T. gondii* (HALL, 1999).

Animais que pastam, estão inevitavelmente em risco de adquirir a infecção por *T. gondii*, pois estão mais expostos à contaminação ambiental por oocistos. Cabras e ovelhas assumem papel importante como fontes de infecção, uma vez que a soroprevalência nestas espécies é alta (TENTER, 2000). Em ovelhas a positividade pode chegar a 92% (CABANNES, 1997) enquanto que em cabras pode alcançar até 75% do rebanho (ROGER, 1991). A infecção em bovinos se dá principalmente através da transmissão horizontal, através da ingestão de oocistos no ambiente (COUTINHO, 1982; DUBEY, 1986). Estudos feitos em 2004, por Daguer et al., no estado do Paraná, constataram soropositividade em 41,4% dos bovinos.

As coleções de água doce podem estar diretamente ligadas à transmissão de *T. gondii* para o homem via oocistos. Bahia-Oliveira et al. (2003), investigando um surto de toxoplasmose em Campos dos Goytacazes, cidade do norte do estado do Rio de Janeiro, sugeriram a ingestão de oocistos

pelo consumo de água não tratada de rios, lagos ou poços como a principal via de contaminação por *T. gondii* naquela cidade.

A transmissão de *T. gondii* por carnivorismo ocorre com a ingestão de carnes, embutidos crus ou mal passados contendo nas suas fibras cistos, ou fluídos corpóreos de hospedeiros, nos quais se encontra uma carga de taquizoítos presentes na fase aguda da infecção toxoplasmática, e que se multiplicam rapidamente em células nucleadas.

Oocistos na água ou vegetais, e cistos teciduais contidos na carne de diversos animais, principalmente suínos representam a maior fonte de infecção por *T.gondii* para o homem (MCALLISTER, 2005).

Um estudo incluindo cidades na Bélgica, Dinamarca, Itália, Noruega, Suíça e Reino Unido, atribuiu 30%-63% dos casos de infecção humana por *T.gondii* ao consumo de carne mal cozida ou curada (COOK, 2000). Possui também importante papel na transmissão da toxoplasmose, o hábito de experimentar o alimento durante o preparo, e o uso de utensílios domésticos como facas e colheres sem a devida higienização com água quente ou sabão (DUBEY, 1998).

Quando a primoinfecção materna acontecer pouco antes da concepção ou durante a gravidez, *T. gondii* pode ser transmitido via placenta para o feto, resultando em infecção aguda, que pode levar a graves sequelas a criança (DUBEY, 2005).

O momento gestacional em que acontece a transmissão vertical do *T. gondii* está diretamente ligada ao momento em que a infecção materna foi adquirida. Quanto mais tarde ocorrer a infecção maior o risco de o feto ser atingido. Se a infecção materna for adquirida nas primeiras seis semanas de gestação o risco de transmissão para o feto é de menos de 2%, elevando-se para mais de 90% se a infecção for adquirida nas últimas semanas de gestação (DESMONTS, 1985; DESMONTS, 1982). Em média, a taxa de transmissão para o feto é de 14% para infecções adquiridas no primeiro trimestre de gravidez, 30% para o segundo e 59% para o terceiro (TENTER, 2000).

No entanto, a gravidade das lesões é inversamente proporcional ao período gestacional, além de depender também da virulência da cepa do parasita (DRUBREMETZ, 2012). Quanto menor a idade gestacional maiores

chances de abortos, e, quanto mais adiantada a gestação, embora seja maior a probabilidade da infecção fetal, menores são os riscos de fetopatias graves (WONG; REMINGTON, 1994; GAGNE, 2001).

2.1.6 *T. gondii* no Hospedeiro Definitivo

Os felídeos são os únicos que permitem a multiplicação do parasito no epitélio intestinal, onde ocorre o desenvolvimento sexual, e excretam os oocistos nas fezes. São espécies-chave na transmissão de *T. gondii* para o homem e outras espécies animais (DUBEY, 2010).

Os felídeos se infectam principalmente ingerindo os bradizoítos em cistos de tecidos de outras espécies animais, ou até mesmo no ambiente contendo oocistos esporulados (PIZZI, 1997; ARAUJO, 1998).

São capazes de eliminar em suas fezes milhares de oocistos de *T. gondii*, por cerca de duas semanas (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY; BEATTIE, 1988), os quais podem se manter viáveis no ambiente por vários meses (BUXTON, 1998).

Normalmente os gatos se infectam ainda quando filhotes, no momento em que ingerem caças trazidas pela mãe, ou congenitamente, porém, após adultos, é difícil eliminar oocistos novamente a não ser que ocorra um quadro de imunossupressão (DUBEY, 2004). Frente a um quadro de imunossupressão, gatos soropositivos podem voltar a eliminar oocistos, mas mesmo sendo em menor quantidade, representam uma importante forma de contaminação ambiental (DUBEY; FRENKEL, 1974). Quando primoinfectados gatos adultos também eliminam oocistos, porém, em menor quantidade e por um período mais curto (LINDSAY; BLAGBURN; DUBEY, 1997).

Praticamente todos os gatos alimentados com cistos de *T. gondii* acabam liberando oocistos nas fezes e este fato deve-se, muito provavelmente, à grande sensibilidade dos felinos aos cistos teciduais de *T. gondii* (DUBEY, 2005).

No Brasil diferenças consideráveis na positividade entre gatos domiciliados e de rua são verificadas, devido aos hábitos higiênicos e alimentares (PENA, 2006). A taxa de soropositividade pode variar de 36% em gatos domésticos a 50% em gatos errantes (De FEO, 2002).

2.1.7 *T. gondii* no Hospedeiro Intermediário

As consequências da toxoplasmose são várias. Em ovinos e caprinos pode ocasionar morte embrionária, reabsorção, morte fetal e mumificação, abortamentos, nascimento prematuro e morte neonatal. Em suínos, *T.gondii* pode causar mortalidade em jovens, e nos animais silvestres a doença é severa, geralmente fatal, como nos marsupiais australianos, macacos do novo mundo, gatos selvagens e canários. Entre os mamíferos marinhos, as lontras têm apresentado altas taxas de mortalidade devido a encefalites por toxoplasmose (SUNDAR, 2008).

Quando a transmissão do protozoário ao hospedeiro intermediário não ocorre por via congênita, geralmente ela se dá pela ingestão do oocisto esporulado no ambiente. (TENTER, 2000).

2.1.8 *T. gondii* em humanos

A infecção por *Toxoplasma gondii* é, geralmente, assintomática em imunocompetentes e sintomática em imunodeprimidos e fetos (JEFFREY, 2001). Em alguns casos pode-se observar sinais clínicos, como linfadenopatia cervical ou axilar, febre baixa, cefaléia, polimiosite, miocardite, hepatite e sensação de fadiga, principalmente em indivíduos que estão passando por um período de imunossupressão (YAMAMOTO, 2000). Em portadores da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) ou transplantados (imunossupressão química), a toxoplasmose pode causar quadros de encefalite e muitas vezes levam o paciente a óbito (HILL; DUBEY, 2002).

A soroprevalência para *T. gondii* em humanos é variada. Geralmente aumenta com a idade e difere conforme os hábitos socioculturais e alimentares, fatores geográficos e climáticos. Em regiões de clima úmido, a prevalência da doença é mais elevada, pois este tipo de clima favorece a sobrevivência dos oocistos no meio ambiente (FELDMAN, 1974).

Diferentes soroprevalências também são encontradas no Brasil. Um inquérito sorológico em gestantes atendidas pelas Unidades Básicas de Saúde do município de Londrina, PR, ao avaliar 492 mulheres, encontrou uma prevalência de 49,2% de positividade (LOPES, 2009).

Na cidade de Pelotas, no Rio Grande do Sul, 54,8% das gestantes atendidas pelo Sistema Público de Saúde eram soropositivas para *T. gondii*

(CADEMARTORI, 2008). Em Porto Alegre, capital do Rio Grande do Sul, após avaliação de 10.468 gestantes e foi verificada uma prevalência de 61,1% (REIS, TESSARO; D'AZEVEDO 2006). Na cidade de Erechim, no mesmo estado, foi encontrada a maior prevalência do mundo da forma ocular da toxoplasmose, atingindo 17% da população (GLASNER, 1992).

A maioria dos surtos de toxoplasmose em humanos tem sido atribuída ao consumo de carne crua ou mal cozida (KIJLSTRA; JONGERT, 2009).

Quanto à sintomatologia clínica, em um surto ocorrido no Canadá, 2894 de 7718 pessoas adquiriram infecção por *T. gondii*. Destas, 100 apresentaram sintomas de toxoplasmose aguda, sendo que 8 tiveram sintomas de toxoplasmose generalizada apresentando suor noturno, calafrios e dor de cabeça. Outros 20 indivíduos apresentaram toxoplasmose ocular, 51 apresentaram aumento dos linfonodos. A faixa etária dos doentes variou entre 6 e 83 anos. Entre as gestantes, 37 mulheres foram identificadas como portadoras de primoinfecção e 12 crianças nasceram portadoras de toxoplasmose congênita (ISAAC-RENTON, 1998; ARAMINI, 1998, 1999).

Ao comparar prevalências deve-se ter atenção ao fato de que, os estudos feitos usaram diferentes tipos de teste para detecção de anticorpos antitoxoplasma, apresentando também variação quanto ao número de amostras utilizadas. Isso também pode explicar a variação entre os resultados (MOURA, 2006).

2.1.9 *T. gondii* em suínos

Os suínos podem adquirir a toxoplasmose pela ingestão de oocistos na água e ração contaminadas, pela ingestão de roedores ou de carnes e vísceras infectadas com cistos e também por infecção transplacentária (DUBEY, 2009).

Dubey et al. (2009) compararam os relatos de prevalência de anticorpos para *T. gondii* em suínos de alguns países do mundo. Nos EUA, onde existe grande consumo de carne suína, foi constatada soropositividade média de 23%, quando foi realizado um estudo em todo o país, utilizando o Teste de Aglutinação Modificado (MAT). No Canadá foi possível observar níveis próximos de zero, em estudo realizado com 6048 suínos utilizando a técnica de ELISA (0,74%), enquanto que, na Itália, foram detectados níveis altos (64,4%) utilizando a mesma técnica.

No Brasil, Guimarães et al. (1992) encontraram taxas de soropositividade de 90% em suínos da raça piau e Araújo et. al. (1998) encontraram taxas de até 54% na região de Erechim, no estado do Rio Grande do Sul, ambos utilizando a técnica de imunofluorescência indireta.

Vários estudos avaliaram a soropositividade para *T. gondii* em suínos de diferentes estados brasileiros. Fornazari et al. (2009) avaliando granjas e abatedouros no estado de São Paulo observaram prevalências de 6,5 e 35%, respectivamente. No Rio Grande do Sul, Gröspan et al. (1995) avaliaram 200 amostras de abatedouros, obtendo uma soroprevalência de 18%. Na região de Pelotas, Pereira (2005) avaliou 195 amostras em granjas e 195 em criadouros artesanais, revelando prevalências de 5,8 e 33,9%, respectivamente. Os resultados obtidos são expressivos e ressaltam a importância desta espécie animal na dispersão do parasito no país. Além disso, soropositividade para *T. gondii* é um indicativo do *status* de higiene e do risco de infecção dos suínos de uma propriedade (DAMRIYASA, 2004).

Durante muitos anos, os suínos foram considerados as principais fontes de infecção de *T. gondii* para o homem, nos Estados Unidos e na Europa. Este fato deve-se às altas taxas de soropositividade e ao isolamento do parasito na carne destes animais (JANITSCHKE, 1999; SHIRLEY, 1997; DUBEY, 1994). No entanto, o desenvolvimento de melhores técnicas de produção e manejo em fazendas de engorda e abate de suínos, em muitos países europeus e norte americanos, resultou em um decréscimo significativo da soropositividade nessa espécie.

Os suínos possuem importante papel na transmissão da toxoplasmose, pois em muitos países, muitas fazendas criam os suínos livres, sem um manejo intensivo do rebanho. Soma-se a isto o fato que mesmo nos países onde predomina o manejo intensivo, ainda existem pequenas propriedades que engordam e abatem os animais da maneira artesanal, posteriormente vendendo a carne para a população (DUBEY, 2009).

O parasito tem sido isolado de diversos tecidos de suínos em todo o mundo, sejam estes oriundos de abatedouros ou de granja, porém, o sucesso do isolamento tem variado muito devido aos procedimentos de prova biológica empregada, mas um fator que tem aumentado a eficiência de isolamento é a avaliação sorológica prévia dos animais (DUBEY, 2009).

No Brasil estudos estão sendo realizados utilizando tecidos de suínos para isolamento do parasito. Santos et al. (2005) analisou vinte e oito corações, cérebros e línguas de suínos, detectando *T. gondii* viável em sete amostras. Frazão-Teixeira et al. (2006) ao avaliarem doze cérebros provenientes do mercado popular de Campos dos Goytacazes obtiveram positividade em seis amostras.

2.1.10 Patogenicidade e Virulência de *Toxoplasma gondii*

Amostras de *T. gondii*, isoladas de diferentes espécies animais, apesar de morfologicamente iguais, exibem considerável variação na patogenicidade e virulência para animais de laboratório (HARBOE; ERICHSEN, 1955; DUBEY; FRENKEL, 1973; DUBEY, 2010).

As amostras inicialmente são diferenciadas através da virulência, normalmente estabelecida pela avaliação de morbidade e mortalidade em camundongos de laboratório (KAUFMAN; REMINGTON; JACOBS, 1958; BOHNE, 1993), embora a virulência do parasita possa ser alterada pela passagem contínua numa mesma espécie animal (JACOBS ; MELTON, 1954).

Essas variações são mais evidentes apenas nas condições extremas, seja de malignidade, como é o caso da amostra RH, que mata 100% dos camundongos no estágio agudo da doença, ou de benignidade, representada pelas amostras não patogênicas, que permitem a sobrevivência prolongada dos camundongos por ela infectados (LAUGIER; QUILICI, 1970).

A patogenicidade varia de acordo com o hospedeiro, o estágio do parasita, via de inoculação e dose infectante, e se traduz pela capacidade do agente, após instalado no organismo, de causar alterações clínicas no hospedeiro (WILLIAMS; GRUMET; REMINGTON, 1978; DUBEY; FRENKEL, 1973).

A patogenicidade dos protozoários depende dos mecanismos específicos para invasão, formação do vacúolo parasitóforo, desenvolvimento, obtenção de nutrientes e evasão do sistema imune. Estudar estas características é importante para conduzir avanços na obtenção de novos alvos terapêuticos (BARROS, 2012). Aparentemente a patogênese ocorre devido à presença ou indução de mediadores inflamatórios solúveis (SIBLEY, 2003), e três organelas estão envolvidas no processo de fixação, penetração e

formação do vacúolo parasitóforo: micronemas, roptrias e grânulos densos (CARRUTHERS, 2002).

A indução da migração celular é outra característica de *T. gondii*. Durante a infecção aguda, os taquizoítos migram pelos tecidos do hospedeiro e atravessam as barreiras biológicas (BARRAGAN; HITZIGER, 2008).

Células do sistema imune podem se tornar um destino adequado para o protozoário mediar sua dispersão no organismo, pois trafegam entre tecidos, drenam para o sistema linfático e voltam à circulação (FRIEDL; WEIGELIN, 2008). As migrações celulares podem ocorrer por passagem paracelular ou transcelular do parasito ou pelo mecanismo de “cavalo de Tróia”, onde os leucócitos infectados transportam o parasito através da barreira celular (LAMBERT; BARRAGAN, 2010).

A diferenciação de taquizoítos em bradizoítos é essencial para a patogênese e transmissão de *T. gondii* (SULLIVAN, 2009; BLANDER; SAEIJ, 2009).

Embora exista variabilidade entre as propriedades biológicas de diferentes cepas, que influenciam sobre sua patogenicidade, as amostras estudadas são antigênica e morfolologicamente semelhantes (TENTER, 1997; JOHSON, 1997). Dubey e Beattie (1988), em revisão sobre *T. gondii*, classificaram as amostras isoladas até então, em altamente virulentas, de virulência intermediária e não virulentas. Essas diferenças foram principalmente atribuídas a fatores como capacidade de penetração celular, taxa de crescimento celular e conversões de taquizoítos em bradizoítos e vice-versa (DARDÉ, 2004).

Foram determinadas três linhagens clonais distintas por diferenças genotípicas do *T. gondii*, chamadas de tipo I, II e III, com variações na virulência das cepas (AJZENBERG, 2004).

Com maior virulência são as do tipo I, pois disseminam-se rapidamente e estão associadas à fase aguda da doença. Cepas dos tipos II e III são menos virulentas e geralmente estabelecem infecções crônicas e apresentam maior taxa de crescimento *in vivo* (BLANDER; SAEIJ, 2009). Independente da via de inoculação e dosagem, cepas do tipo I são letais. Por outro lado, a letalidade das cepas do tipo II e III está diretamente ligada a via de inoculação, dosagem e genótipo do hospedeiro (SIBLEY, 2003).

A cepa RH é muito utilizada como padrão na comparação entre cepas. Ela foi isolada em 1939 de uma criança com quadro letal de encefalite toxoplásmica (HOWE; SIBLEY, 1995). Esta cepa é característica do tipo I, letal para camundongos mesmo em baixos inóculos. A cepa RH, quando injetada numa dose de 10^5 taquizoítos em camundongos (SWISS) ou (BALB/c), leva-os à morte em 6 a 7 dias, e por isso é considerada como uma cepa virulenta. A cepa ME-49 foi originalmente isolada da musculatura de ovino. É uma cepa cistogênica e considerada avirulenta ou de baixa virulência. Em camundongos BALB/c a cepa ME-49 de *T. gondii* produz cistos no cérebro. O aparecimento de cistos caracteriza a fase crônica da infecção que persiste por toda a vida destes camundongos (LUNDE; JACOBS, 1983).

Os isolados da América do Sul, independente da espécie isolada, quando avaliadas pelo bioensaio em camundongos, têm se mostrado mais virulentos do que os da Europa e América do Norte (DUBEY, 2006; 2007; CAVALCANTE, 2007).

Estudos evidenciam predominância de cepas do tipo II em pacientes imunossuprimidos e infecções congênitas. Um estudo de coorte realizado na França com pacientes imunossuprimidos apontou cepas do tipo II em 75 a 80% dos pacientes (HONORE et al., 2000). Cepas do tipo III são pouco comuns em seres humanos, sendo isoladas principalmente de animais (MONTROYA; LIESENFIELD, 2004).

Em casos de toxoplasmose ocular, tem sido encontradas cepas do tipo I. Neste caso ocorre grande destruição tecidual e pouca resposta ao tratamento quimioterápico (BOOTHROYD; GRIGG, 2002).

Nem sempre as cepas isoladas de *T. gondii* pertencem aos tipos I, II ou III, sendo, então, consideradas recombinantes ou atípicas, embora seja muito raro o encontro de hospedeiros infectados com mais de um tipo de cepa (PENA, 2008). Em humanos as cepas atípicas são mais comumente encontradas em casos de toxoplasmose ocular severa (BOOTHROYD; GRIGG, 2002).

Classificar as diferentes cepas de *T. gondii* é extremamente importante para a caracterização epidemiológica, pois permitirá a investigação da distribuição e da virulência de diferentes cepas de parasitos isoladas de populações animais e humanos (SILVA, 2001).

Conhecer os limites até onde a reprodução sexual e a expansão clonal do parasito alteram o perfil de *T. gondii* é questão central para se entender a estrutura genética populacional global do parasito (GRIGG, 2009).

Novos estudos devem ser realizados quanto à análise da patogenicidade e virulência, pois isto pode estar intimamente associada à carga parasitária, forma infectante e consequências ocasionadas pela infecção pelo parasito (PENA, 2008). Caracterizar biopatologicamente as cepas de uma região pode explicar a forma de ocorrência da toxoplasmose em humanos e animais, se a mesma é preocupante ou não em saúde pública, ou mesmo para a produção animal.

3 Objetivos

3.1 Geral

- Caracterizar, quanto à patogenicidade e virulência em camundongos suíços albinos, isolados de *T. gondii* de suínos de criação artesanal da região sul do Rio Grande do Sul.

3.2 Específicos

- Isolar *T. gondii* dos tecidos de suínos, através de bioensaio em camundongos.
- Investigar a patogenicidade e virulência dos isolados através de inoculações com diferentes concentrações de taquizoítos do parasito.
- Determinar a presença de cistos *T. gondii* em camundongos utilizados no bioensaio.

4 Referências

- AJZENBERG, D.; BANULS, A.L.; SU, C.; DUMETRE, A.; DEMAR, M.; CARME, B.; DARDE, M.L. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Parasitol.**, v. 34, p. 1185–1196, 2004.
- ALMEIDA, M.A.B.; ALENCAR-JUNIOR, L. R.; CARMO, G.M.I.; ARAUJO, W.N.; GARCIA, M.H.O.; REIS, A.K.V.; FIGUEIREDO, D.M.S.; SPERB, A.F.; BRANCO, N.; FRANCO, R.M.B.; HATCH, D.L. Surto intrafamiliar de toxoplasmose, Santa Vitória do Palmar – RS. **Bol. Eletro. Epidemiol.**, ano 6, n. 3, p.1-7, 2006.
- AMARAL, V. & MACRUZ, R. *Toxoplasma gondii*: isolamento de amostra a partir de diafragma de suínos clinicamente sadios, abatidos em matadouros de São Paulo – Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v. 36, p. 47-54, 1969.
- AMENDOEIRA, M.R.R.; COSTA, T.; SPALDING, S.M. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. **Rev. Sou. Marq.**, Rio de Janeiro, v.1, n.1, p. 15-29, 1999.
- ARAMINI, J.J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J.P.; ENGELSTOFT, C.; SCHWANT J.E.H.; RIBBLE, C.S. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Epidemiol. Infect.**, v. 122, p. 305-315, 1999.
- ARAMINI, J.J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolorvancouverensis*): serology and oocyst shedding. **J. Parasitol.**, v 84, p. 438-440, 1998.
- BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; JONES, J.L.; AZEVEDO-SILVA, J., ALVES, C.C.F.; ORÉFICE, F.; ADDISS, D.G. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro State. **Brazil. Emerg. Infect. Dis.**, v.9, p. 55–62, 2003.
- BARRAGAN, A.; HITZIGER, N. Transepithelial migration by *Toxoplasma*. **Sub-cell. Biochem.**, v. 47, p. 198- 207, 2008.
- BARROS, M.P.; INOCENTE, A.M.; SILVA, G.N.S.; DUARTE, M. VUNDA, S. L. L.; TASCA, T. Mecanismos específicos de patogenicidade de protozoários intracelulares: *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. **Revista Liberato**, v. 13, n. 20, p. 01-134, jul./dez. 2012.
- BEATTIE, C.P. The ecology of toxoplasmosis. **Ecology of disease**, v. 1, p. 13-20, 1982.
- BIANCHI, B.C. **Toxoplasmose: Histórico e Avanços**. 50f. Tese para conclusão de curso em ciências biológicas – Faculdades Integradas da Fundação de Ensino Octavio Bastos, São João da Boa Vista – SP, 2005.
- BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiol. Molec. Bio. Rev.**, v.64, p.607-623, 2000.

BLADER, I.J.; SAEIJ, J.P. Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune evasion, and virulence. **APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica**, v. 117, n.5-6, p. 458-476, May 2009.

BOHNE, W.; HEESEMANN, J.; GROSS, U. Induction of bradyzoite-specific *Toxoplasma gondii* antigens in gamma interferon-treated mouse macrophages. **Infect. Immun.**, v. 61: p.1141–1145, mar. 1993.

BONAMETTI, A.M.; PASSOS, J.N.; SILVA, E.M.K.; BORTOLIERO, A.L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Ver. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 30,n.1,p.21-5, 1997b.

BONAMETTI, A.M.; PASSOS, J.N.; SILVA, E.M.K.; MACEDO, Z.S. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast-feeding. **J. Trop. Pediat.**, v.43,p. 116, 1997a.

BOOTHROYD, J. C.; GRIGG, M. E. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease?. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 5, p. 438e442, 2002.

BUXTON, D. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. **Vet. Res.**, v.29, p.289-310, 1998.

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

CADEMARTORI, B.G., FARIAS, N.A.R., BROD, C.S. Seroprevalence and risk factors to *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women of Pelotas, south of Brazil. **Rev. Panam. Infectol.** v. 10, n. 4, p. 30-35, 2008.

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

CARRUTHERS, V.B.; SUZUKI, Y. Effects of *Toxoplasma gondii* infection on the brain. **Schizophr. Bull.**, v.33, p.745-751, 2007.

COUTINHO, S.G.; LOBO, R.; DUTRA, G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. **J. Parasitol.**, Lancaster, v. 68, n. 05, p. 866-868, 1982.

CRISTINA, N.; OURY, B.; AMBROISE-THOMAS, P.; SANTORO, F. Restriction fragment- length polymorphisms among *Toxoplasma gondii* strains. **Parasitol. Res.**, v.77, p.266-268, 1991.

DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T.; VIRMOND, M. P.; HAMANN, W.; AMENDOEIRA, M.R.R. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microregião de Pato branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p. 1133-1137, 2004.

DAMRIYASA, I.M.; BAUERA, C.; EDELHOFERB, R.; FAILINGC, K.; LINDD, P.; PETERSENE, E.; SCHARESF, G.; TENTERG, A.M.; VOLMERH, R.; ZAHNERA, H. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. **Vet. Parasitol.**, v.126, p.271–286, 2004.

DARDÉ, M.L. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. **Ann. Inst. Super. Sanità**, v.40, p.57-63, 2004.

De MOURA, L.; BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; WADA, M.Y.; JONES, J.L.; TUBOI, S.H.; CARMO, E.H.; RAMALHO, W.M.; CAMARGO, N.J.; TREVISAN, R.; GRACA, R.M.T.; SILVA, A.J.; MOURA, I.; DUBEY, J.P.; GARRET, D.O. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, p. 326–329, 2006.

DESMONTS, G. 1985. Prevention de la toxoplasmosis: remarques sur l'expérience pour suivie en France. In M Marois (ed.), Prevention of physical and mental congenital defects, Part B: Epidemiology, early detection and therapy, and environmental factors, **Alan R Liss**, New York, p. 313-316, 1985.

DESMONTS, G. Acquired toxoplasmosis in pregnant women. Evaluation of the frequency of transmission of *Toxoplasma* and of congenital toxoplasmosis. **Lyon Med.**, v. 248, p. 115-123, 1982.

DESMONTS, G.; COUVREUR, J. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. **N. Engl. J. Med.**, v.290, p. 1110-1116, 1974.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **J. Clin. Microbiol.**, v. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.

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

Dos SANTOS, C.B. de A.; de CARVALHO, A.C.F.B.; RAGOZO, A.M.A.; SOARES, R.M.; AMAKU, M.; YAI, L.E.O.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S. M. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 131, 207-211, 2005.

DUBEY, J.P. Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. **Vet. Pathol.**, v.11, p.350-379, 1974.

DUBEY, J.P.; TOWLE, A. Toxoplasmosis in sheep. St Albans, UK: **Common. Inst. Parasitol.**, p.11, 1986.

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

DUBEY, J.P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats, **J. Protozool.**, v. **82**, p. 957–960, 1996.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis: a waterborne zoonosis. **Vet. Parasitol.**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in pigs-The last 20 years. **Vet. Parasitol.**, v. 164, p. 89-103, 2009.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis of Animals and Humans, second ed. **CRC Press, Boca Raton, FL**, p. 1 – 313, 2010.

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

DUBEY, J.P.; BEATTIE C.P. Toxoplasmosis of animals and man. **Boca Raton, CRC Press**, p. 1-220, 1988. DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis** – an overview. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Helth.**, 22 (suppl), p.88-119, 1991.

DUBEY, J.P.; EDELHOFER, R.; MARCET, P.L.; VIANNA, M.C.B.; KWOK, O.C. H.; LEHMANN, T. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria . **Vet. Parasitol.**, v. 133, n. 4, p. 299-306, 2005.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **J. Protozool.**, v. 19, p. 155-177, 1972.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. **J. Parasitol.**, v.59, p.505-12, 1973.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. **J. Protozool.**, v.23, p.537- 546, 1976.

DUBEY, J.P.; HILL, D.E.; SUNDAR, N.; VEIMURUGA, G.V.; BANDINI, L.A.; KWOK, O.C.H.; PIERCEI, V.; KELLY, K.; DULIN, M.; THULLIEZ, P.; IWUEKE, C.; SU, C. Endemic Toxoplasmosis in Pigs on a Farm in Maryland: Isolation and Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol.**, v.94, n.1, p. 36-41, 2008.

DUBEY, J.P.; JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **Int. J. Parasitol.**, v.38, p.1257–1278, 2008.

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

DUBEY, J.P.; MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol.**, v. 56, p.447-456, 1970.

DUBEY, J.P.; MORALES, E.S.; LEHMANN, T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. **J. Parasitol.**, v. 90, p. 411-413, 2004.

DUBEY, J.P.; SU, C. Population biology of *Toxoplasma gondii*: what's out and where did they come from. **Mem. Instit. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 190-195, 2009.

FARREL, R.L.; DOCTON, F.L.; CHAMBERLAIN, D.M.; COLE, C.R. Toxoplasmosis. I. *Toxoplasma* isolated from swine. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v. 13, p. 181-185, 1952.

FELDMAN, H. A. Toxoplasmosis: An Overview. **Acad. Med**, v. 50, p.110-127, 1974.

FEO, M.L.; DUBEY, J. P.; MATHER, T. N.; RHODES, R. C. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. **Am. J. Vet. Res.**, v.63, n.12, p.1714-1717, 2002.

FIALHO, C.G. **Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii*, (Nicolle & Manceaux, 1909) em soros de suínos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil, através das técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação indireta (HAI).** 115p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre-RS, 2002.

FORNAZARI, F.; LANGONI, H.; SILVA, R. C.; GUAZZELLI, A.; RIBEIRO, M.G., CHIACCHIO, S. B. *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Barazil. **Vet. Parasitol.**, n.164, p.333-334, 2009.

FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; OLIVEIRA, F.C.R.; PELISSARI-SANT'ANA, V.; LOPES, C.W. *Toxoplasma gondii* in brains of pigs commercialized at the Municipality of Campos dos Goytacazes in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.15, p. 33-36, 2006.

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

FRIEDL, P.; WEIGELIN, B. Interstitial leukocyte migration and immune function. **Nature Immunology**, v. 9, n. 9, p. 960-969, Sep. 2008.

GAGNE, S. S. Toxoplasmosis. **Prim. Care Update Ob/Gyns**, v. 8, p. 122-126, 2001.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.1, p.91-97, 1999.

GARD, S.; MAGNUSSON, J.H. A glandular form of toxoplasmosis in connection with pregnancy. **Acta. Med. Scand.**, v. 141, p. 59-64, 1951.

GLASNER, P.D.; SILVEIRA, C.; KRUSZON-MORAN, D.; MARTINS, M.C.; BURNIER, M.; SILVEIRA, S.; CAMARGO, M.E.; NUSSENBLATT, R.B.; KASLOW, R.A.; BELFORT, R. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. **Am. J. Ophthalm.**, v.114, p.136-144, 1992.

GONÇALVES, Juliana Macedo. **Avaliação das boas práticas adotadas nas cozinhas hospitalares da cidade de Pelotas/RS**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

GRIGG, M.E.; GANATRA, J.; BOOTHROYD, J.C.; MARGOLIS, T.P. Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. **J. Infect. Dis.**, v.184, p. 633–639, 2001.

GRÜNSPAN, E.D.; MOREIRA, W.S.; EDELWEISS, M.I.A.; ULON, S.N.; DAUDT, H.M.L.; 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**, v.25, n.2, p.261-264, 1995.

GUIMARÃES, A.M.; RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D.; de ALMEIDA, T.M.B. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 44, p. 69-71, 1992.

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

HARBOE, A.; ERICHSEN, A. Comparative study of the lenght of the parasite of four strains of *Toxoplasma gondii*. **Acta Pathol. Microbiol. Scand.**, v.37, p.31, 1955.

HILL, D.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clin. Microbiol. Infec.**, v. 8, p.634-640, 2002.

HONORE, S.; COUVELARD, A.; GARIN, Y.J.; BEDEL, C.; HENIN, D.; DARED, M.L.; DEROUIN. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains from immunocompromised patients. **Patholbiol.**, v.48, p. 541-547, 2000.

HOWE, D.K.; SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **J. Infect. Dis.**, v.172, p.1561-1566, 1995.

HUTCHISON, W.M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. **Nature**, v. 206, p. 961-962, 1965.

HUTCHISON, W. M.; DUNACHIE, J. F.; WORK, K.; SIIM, J. C. The life cycle of the coccidian parasite, *Toxoplasma gondii* in the domestic cat. **T. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, London, v.65, n.3, p.380-399, 1971.

ISAAC-RENTON, J.; BOWIE, W. R.; KING, A. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 64, p. 2278-2280, 1998.

JACOBS, J.; REMINGTON, J.S.; MELTON, M.L. A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. **J. Parasitol.**, v. 46, p. 23-28, 1960a.

JACOBS, L.; REMINGTON, J.S.; MELTON, M.L. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol.**, v. 46, p. 11-21, 1960b.

JANITSCHKE, K. Pränatal Übertragung der Toxoplasmen Von der Mutter auf das Kind. **Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz**, v. 42, p. 548-52, 1999.

JEFFREY, J.L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital toxoplasmosis: a review. **Obs. Gynec.**, v.56, p.296-300, 2001.

KAUFMAN, H.E.; MELTON, M.L.; REMINGTON, J.S.; JACOB, L. Strains differences in *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol.**, v.45, n.2, p.189-90, 1959.

KAUFMAN, H.E.; REMINGTON, J.S.; JACOBS, L. Toxoplasmosis: The nature of virulence. **Am. J. Ophthalmol.**, v.46, p.255-61, 1958.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In NEVES, D. P. Parasitologia Humana, Atheneu, São Paulo, 11. ed. p 147-156, 2003.

KIJLSTRA, A.; JONGERT, E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. **Int. J. Parasitol.**, v. 38, n. 12, p. 1359-1370, 2008.

KIJLSTRA, A.; JONGERT, E. *Toxoplasma*-safe meat: close to reality? **Trends Parasitol.**, v.25, p.18-22, 2009.

LAMBERT, H.; BARRAGAN, A. Modelling parasite dissemination: host cell subversion and immune evasion by *Toxoplasma gondii*. **Cell Microbiol.**, v. 12, p. 292-300, 2010.

LAUGIER, M.; QUILICI, M. Interêt expérimental d'une souche de toxoplasme peu pathogène pour la souris. **Annal. Parasitol. Hum. Compar.**, v.45, n.4, p.389-403, 1970.

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.;

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

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

LOPES, W.D.Z.; COSTA, A.J.; SANTANA, L.F.; SANTOS, R.S.; ROSSANESSE, W. M.; LOPES, W.C. Z.; COSTA, G.H. N.; SAKAMOTO, C. A.; SANTOS, T. R. Aspects of toxoplasma infection on the reproductive system of experimentally infected rams (*Ovis aries*). **J. Parasitol. Res.**, v. 1, p. 1–6, 2009.

LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; LOUREIRO, V.de S. *Toxoplasma gondii* infection in Brazilian domestic outpatient cats. **Rev. Inst. Méd. Trop. S.P.**, São Pulo, v. 41, n. 4, p. 221-224, 1999.

LUFT, B. J. *Toxoplasma gondii*. In: PD Walzer & RM Genta, Parasitic infections in the compromised host, Marcel Dekker editors, New York, p. 179-279, 1989.

LUFT, B.T.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmic encephalitis. **Journal of Infectious Diseases**, v.157, p. 1-6, 1992.

LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **Int J Food Microbiol.**, v.15, p. 357-363, 1992.

McALLISTER, M.M. A decade of discoveries in veterinary protozoology changes our concept of “subclinical toxoplasmosis”. **Vet. Parasitol.**, v.132, p. 241-247, 2005.

MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, n. 9425, p.1965-1976, 2004.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **C. R. Herbd Séances Acad. Sci.**, v. 147, p. 763-766, 1908.

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

PENA, H.F.J.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; SU, C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. **International Journal for Parasitology**, v.38 p.561–569, 2008.

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

PERKINS, E.S. Ocular toxoplasmosis. Br **J. Ophthalmol.**, v.57, p.1, 1973.

PINKERTON, H.; WEINMAN, D. *Toxoplasma* infection in man. **Arch. Pathol.**, v. 30, p.374-392, 1940.

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

RAWAL, B.D. Toxoplasmosis: a dye-test survey on sera from vegetarians and meat eaters in Bombay. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, p. 61-63, 1959.

REIS, M.M.; TESSARO, M.M.; D'AZEVEDO, P.A. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital publico de Porto Alegre. **Rev. Bras. Ginecol. Obst.**, v. 28, n. 3, p. 158-164, 2006.

REMINGTON, J.S.; ARAUJO, F.G.; DESMONTS, G. Recognition of different *Toxoplasma* antigens by IgM and IgG antibodies in mothers and their congenitally infected newborns. **J. Infect. Dis.**, v. 155, p. 1020–1024, 1985.

REMINGTON, J.S.; KRAHENBUHL, J.L. **Immunology of *Toxoplasma gondii***. In. A.J. Nahmias and R. J. O'Reilly, Immunology of Human Infection. Part II: Viruses and Parasites; Immunodiagnosis and Prevention of Infectious Diseases. Plenum, New York, p.327-362, 1982.

REMINGTON, J.S.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. **In:** Remington, J.S. & Klein, J.O. Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 3 ed. **Philadelphia: W.B. Saunders**, p. 89-195, 1990.

ROGER, F.; PRUNAUX, O.; GUIGNARD, A. La toxoplasmose bovine et caprinea l'île de Réunion: resultants d'une enquête sérologique. **Rev. Méd. Vet.** v.142, p. 143-146, 1991.

SABIN, A.B.; FELDMAN, H.A. Dye as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, p. 660-663, 1948.

SABIN, A.B.; EICHENWALD, H.; FELDMAN, H.A.; JACOBS, L. Present status of clinical manifestations of toxoplasmosis in man: indications and provisions for routine serologic diagnosis. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 150, p. 1063-1069, 1952.

SACKS, J.J.; ROBERTO, R.R.; BROOKS, N.F. Toxoplasmosis infection associated with raw goat'a milk. **J. Am. Med. Assoc.**, v.248, n.14, p. 1728-32, 1982.

SHIRLEY, M.W. Vaccines against animal coccidiosis. Working group 4, sarcocystiosis, toxoplasmosis, neosporosis, **Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities**, 1997.

SIBLEY, L. D. Intracellular parasite invasion strategies. **Science**, v. 304, p. 248-253, 2004.

SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii*: Perfecting an intracellular life style. **Traffic.**, v. 4, p. 581-586, 2003.

SIIM, J.C. Studies on acquired toxoplasmosis. II. Report of a case with pathological changes in lymph node removed at biopsy. **Acta Pathol. Microbiol. Scand.**, v. 30, p. 104-108, 1952.

SILVA, J.M.L. Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. **Arq. Esc. Sup. Vet.**, UREMG, n. 12, p. 425-428, 1959.

SILVA, A.V.; CUNHA, E.L.P.; MEIRELES, L.R.; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R.A.; LANGONI, H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do estado de Pernambuco, Brasil. **Ciênc. Rural**, v.33, n.1, p. 115-119, 2003.

SILVA, A.V.; SILVA, R.C.; ZAMPROGNA, T.O. *Toxoplasma gondii* em suínos com ênfase na contribuição brasileira. **Sci. Med.**, v. 20, n.1, p. 120-130, 2010.

SMITH, J.E.; REDUCK, N.R. ***Toxoplasma gondii* strain variations and pathogenicity**. In: CARY, J. W.; LINZ, J. E.; BHATNAGAR, B. (Ed.). Microbial food-borne diseases: mechanisms of pathogenesis and toxin synthesis. Philadelphia: Technomic Publishing, Mancaster, p. 405-431, 2000.

SPALDING, S.M. **Acompanhamento de gestantes com risco de transmissão de infecção cogênita por *Toxoplasma gondii*, Nicolle e Manceaux, 1909** - diagnóstico e aspectos epidemiológicos. 2000. 129f. Tese de Doutorado - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2000.

SPALDING, S.; AMENDOEIRA, M.R.R.; KLEIN, C.H.; RIBEIRO, L.C. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in south of Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, p. 173-177, 2005.

SULLIVAN, W.J.; SMITH, A.T.; JOYCE, B.R. Understanding mechanisms and the role of differentiation in pathogenesis of *Toxoplasma gondii*: a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 155-161, mar. 2009.

SUNDAR, N.; COLE, R.A.; THOMAS, N.J.; MAJUMDAR, D.; DUBEY, J.P.; SU, C. Genetic diversity among sea otter isolates of *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitol.**, v. 151, n. 2-4, p. 125-132, 2008.

TENTER, A.M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 364-9, Mar. 2009.

TENTER, A.M.; JOHNSON, A.M. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidian. **Advanc. Parasitol.**, v.39, p. 69-139, 1997.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.**, v.30, p.1217-1258, 2000.

WEINMAN, D.; CHANDLER A.H. Toxoplasmosis in swine and rodents: reciprocal oral infection and potential human hazard. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 87, p. 211-6, 1954.

WEINMAN, D.; CHANDLER, A.H. Toxoplasmosis in man and swine – An investigation of the possible relationship. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 161, p. 229-232, 1956.

WILDER, H.C. *Toxoplasma* chorioretinitis in adults. **Arch. Ophthalmol.**, v.48, p.127-36, 1952.

WILLIAMS, D.M.; GRUMET, F.C.; REMINGTON, J.S. Genetic control of murine resistance to *Toxoplasma gondii*. **Infec. Immun.**, v.19, p.416-20, 1978.

WOLF, A.; COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an Encephalitozoon (encephalitozoic encephalomyelitis): a new protozoan disease of man. **Bull Neurol. Inst.**, NY, v. 6, p. 306-371, 1937.

WOLF, A.; COWEN, D.; PAIGE, B.H. Toxoplasmic encephalomyelitis. III. A new case of granulomatous encephalitis due to a protozoon. **Am. J. Pathol.**, v. 15, p.657-694, 1939.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J.S. Biology of *T. gondii*. **AIDS**, v.7, p. 299-316, 1993.

WONG, S.Y.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis in pregnancy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 18, p.853-862, 1994.

XAVIER,G.A. **Avaliação soroepidemiológica de *Toxoplasma gondii* em pacientes HIV positivos em Pelotas-RS**. 2009. 86 f. Dissertação(Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Universidade Federalde Pelotas, Pelotas, 2009.

YAMAMOTO, J.; VALLOCHI, A.L., SILVEIRA, C.; KALIL FILHO, J.; NUSSENBLATT, R.B.; CUNHA-NETO, E.; GAZZINELLI, R.T.; BELFORT JUNIOR, R.; RIZZO, L.V. Discrimination between patients with acquired toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v.181, p.2018-2022, 2000.

ZAMAN, V. Morphology of *Toxoplasma* oocysts and its comparison with other coccidia. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**. v.1, p.329-335, 1970.

5 Artigo

Título: Patogenicidade e Virulência de *Toxoplasma gondii* isolado de suínos de criação artesanal do sul do Brasil

Autores:

Plínio Aguiar de Oliveira

Fernando Caetano de Oliveira

Laura Maria Jorge de Faria

Beatris Gonzalez Cademartori

Clairton Marcolongo Pereira

Ana Carolina Barreto Coelho

Felipe Geraldo Pappen

Nara Amélia da Rosa Farias

Artigo a ser submetido, formatado de acordo com as normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira (0100-736X impresso)

Patogenicidade e Virulência de *Toxoplasma gondii* isolado de suínos de criação artesanal do sul do Brasil

Plínio Aguiar de Oliveira^{1*}, Fernando Caetano de Oliveira¹, Laura Maria Jorge de Faria¹, Beatriz Gonzalez Cademartori¹, Clairton Marcolongo Pereira², Ana Carolina Barreto Coelho², Felipe Geraldo Pappen³, Nara Amélia Farias¹

ABSTRACT.- Oliveira P.A., Oliveira F.C., Faria L.M.J., Marcolongo-Pereira C., Coelho A.C.B., Pappen F.G. & Farias N.A.R. 2014. [Patogenicity and Virulence of *Toxoplasma gondii* isolated from pigs in southern Brazil] Patogenicidade e virulência de *Toxoplasma gondii* isolado de suínos do sul do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário S/N, Pelotas, RS 96010-900, Brasil. E-mail: plinio-vet@hotmail.com

Studies with *Toxoplasma gondii* in pigs are important because they are part of the human food chain. The main routes of transmission of this agent are: carnivorous, fecal-oral and congenital. Six isolates of *T. gondii* from artisanal handling pigs were evaluated for virulence and pathogenicity. Half of the isolates (3/6) were lethal and caused clinical signs in swiss albino mice. The minimum lethal dose was 10^3 tachyzoites by inoculum. The death of mice who had acute infection occurred between 12 and 26 post-inoculation days. Three *T. gondii* isolated strains were virulent and pathogenic, while the others are not pathogenic or virulent. All isolates of the study area have a high ability to originate cysts, which can increase the risk of infection by ingest infected animal's tissues.

INDEX TERMS: *Toxoplasma gondii*, isolates, pigs, artisanal handling.

RESUMO.- Estudos com *Toxoplasma gondii* em suínos são relevantes porque fazem parte da cadeia alimentar do ser humano. As principais vias de transmissão deste agente são o carnivorismo, fecal-oral e congênita. Foram avaliados, quanto a patogenicidade e virulência, seis isolados de *Toxoplasma gondii* de suínos de criação artesanal. Dos isolados, 50% (3/6) foram letais e causaram sinais clínicos em camundongos suíços albinos. A dose mínima letal foi de 10^3 taquizoítos. A morte dos indivíduos que apresentaram infecção aguda ocorreu entre 12 e 26 dias pós-inoculação. Três amostras de *T. gondii* isoladas mostraram-se virulentas e patogênicas, as demais não são virulentas nem patogênicas. Todos os isolados da região estudada apresentam alta capacidade de formar cistos, o que pode aumentar o risco de infecção pela ingestão de tecidos dos animais infectados pelos mesmos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Toxoplasma gondii*, isolado, suínos, criação artesanal.

Introdução

Toxoplasma gondii, protozoário cosmopolita e intracelular obrigatório, é agente de uma das infecções parasitárias mais comuns do homem, dos animais domésticos e selvagens (Dubey 2010). As principais formas de infecção ocorrem por via oral, através da ingestão de carne mal cozida contendo cistos, de alimentos e água contaminados com oocistos eliminados nas fezes de gatos infectados, ou ainda, via transplacentária (Dubey & Jones, 2008).

No Brasil, a soroprevalência de *T. gondii* em humanos é elevada, variando de 15-80% nos adultos, chegando a 100% em algumas áreas (De Moura et al. 2006), sendo considerado o terceiro patógeno mais frequente em pacientes que apresentam complicações relacionadas à síndrome da imunodeficiência adquirida - SIDA (Colombo et al. 2005). No estado do Rio Grande do Sul, a prevalência do protozoário na população varia de 54,8% a 74,5% (Cademartori et al. 2008).

A carne suína é uma importante fonte proteica para o homem, porém, devido ao seu hábito onívoro, e ao grande percentual de cistos viáveis na carne, os suínos são hospedeiros intermediários com grande importância para a manutenção de *T. gondii* na natureza (Jongert et al. 2008). A maioria dos suínos se infecta com o protozoário após o nascimento, por ingestão de oocistos no ambiente contaminado ou ingestão de tecidos de animais infectados (Kijlstra et al. 2008). Nas criações artesanais, a possível ingestão de roedores, pássaros, vísceras de animais de abate doméstico e alimentos ou água contaminados, aumenta o risco de infecção (Dubey 2009).

Entende-se por patogenicidade a capacidade do agente, uma vez instalado, de produzir sintomas e sinais clínicos, e por virulência, a capacidade do agente de produzir efeitos graves ou fatais (Pereira 2004).

O isolamento do parasito em suínos tem sido realizado a partir de vários tecidos naturalmente infectados, como cérebro, coração, língua e diafragma (Garcia et al. 2006, Velmurugan et al. 2009, Bezerra et al. 2012). Genótipos Tipo I, Tipo III e atípicos de *T. gondii* têm sido identificados nesses hospedeiros (Garcia et al. 2006, Belfort- Neto et al. 2007, Velmurugan et al. 2009, Bezerra et al. 2012). Estudos realizados em diferentes regiões e hospedeiros confirmaram que os isolados de *T. gondii* do Brasil são biológico e geneticamente diferentes daqueles da América do Norte e Europa, apresentando uma alta diversidade (Pena et al. 2008).

As amostras têm sido diferenciadas através de suas virulências, normalmente estabelecidas de acordo com a morbidade e mortalidade em camundongos de laboratório, embora essas características sejam alteradas pela passagem contínua numa mesma espécie animal (Kaufman et al. 1958, Kaufman et al. 1959, Jacob & Melton 1954). A relevância da caracterização fenotípica de *T. gondii* para o melhor entendimento deste protozoário em seus hospedeiros no Sul do Brasil justifica o presente trabalho. O objetivo deste estudo foi isolar e avaliar quanto a patogenicidade e virulência amostras de *T. gondii* provenientes de suínos de criação artesanal.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de sangue e tecidos (coração e encéfalo) de doze suínos criados artesanalmente e abatidos para consumo humano, provenientes de seis municípios do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: Capão do Leão, Cerrito, Morro Redondo, Piratini, Pelotas e São Lourenço, situados entre os paralelos 31° 21" e 31° 46"S e os meridianos 53° 06" e 51° 58"W.

As amostras foram obtidas e identificadas no momento do abate dos animais, nas propriedades, acondicionadas e transportadas em caixas térmicas até o Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Os soros provenientes das amostras de sangue foram examinados para detecção de anticorpos IgG para *T. gondii* através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), conforme técnica descrita por Camargo (1974), utilizando antígeno comercial Imuno-COM (Wama Diagnostica) e o conjugado Ig G anti-suíno (Sigma Chemical®). Foi utilizado o ponto de corte de 1:64.

Para o isolamento, obtenção de taquizoítos e avaliação da patogenicidade e virulência das amostras de *T. gondii*, foram utilizados camundongos suíços albinos (*Mus musculus*), fêmeas, com aproximadamente dois meses de idade, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina Veterinária, da UFPel.

No bioensaio em camundongos, encéfalo e coração de suínos que apresentaram sorologia positiva para *T. gondii*, foram triturados, homogeneizados e preparados por digestão péptica, conforme descrito por Dubey (1998). Fragmentos de 25g de encéfalo somados a 25g de coração de cada suíno foram triturados, homogeneizados com 125 vol (v/v) de solução salina, misturando a solução com pepsina ácida 5 volumes. A mistura foi então incubada em banho-maria por uma hora a uma temperatura de 37°C, e homogenizada e filtrada em duas folhas de gaze, para então ser centrifugada (1500xg durante 10 minutos). Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e adicionado ao sedimento solução neutralizadora (1,2% bicarbonato de sódio – pH~8.3). Novamente, o material foi centrifugado e o sobrenadante descartado. Adicionou-se 5 a 10 ml de solução, contendo 1000 UI Penicilina e 100 mg de estreptomicina por ml de solução. Duas inoculações de 1 ml do homogeneizado dos tecidos foram efetuadas via intraperitoneal em diferentes grupos de camundongos compostos por cinco animais cada, com intervalo de 24 horas. Os camundongos foram observados diariamente, para o registro de eventuais alterações clínicas e morte.

Os animais que sobreviveram ou permaneceram assintomáticos foram sacrificados 60 dias pós-inoculação (p.i.) e os soros analisados através da RIFI para pesquisa de anticorpos IgG anti-*T.*

gondii, com ponto de corte 1:16 (Camargo, 1974), utilizando-se o conjugado IgG anti-camundongo (Sigma Chemical®).

A partir da primeira passagem camundongo/camundongo, os animais foram observados durante 30 dias, e, caso não apresentassem sinais clínicos da infecção, foram eutanasiados e feitas passagens subsequentes utilizando encéfalo, coração, fígado, pulmões e baço dos próprios camundongos até isolar o agente em cada uma delas.

A suspensão de taquizoítos utilizada nos testes de virulência foi obtida através da punção ou lavagem da cavidade peritoneal de camundongos que apresentaram ascite. Os taquizoítos foram suspensos em solução salina e padronizados por contagem em câmara de Neubauer. Cada amostra foi inoculada em grupos de cinco camundongos, com inóculo de: 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 taquizoítos vivos, via intraperitoneal. O grupo controle recebeu apenas solução salina.

Após a morte ou eutanásia dos animais, fragmentos de órgãos das cavidades abdominal e torácica e sistema nervoso central, foram coletados e encaminhados para o Laboratório Regional de Diagnóstico da UFPel. As amostras foram então fixadas em formalina a 10% e processadas. Após, o material foi processado rotineiramente para exame histológico e corado pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

A pesquisa foi realizada com a aprovação da Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, concedida pelo parecer CEEA nº 2300.

Resultados

Oito (67%) dos 12 suínos analisados foram soropositivos para *T. gondii*. Estes eram provenientes de quatro dos seis municípios envolvidos na pesquisa (Piratini, Cerrito, Capão do Leão e Pelotas).

Foi possível isolar o parasito de seis amostras, ou seja, o percentual de isolamento foi de 75% (6/8). Desses seis isolados, um (16,7%) foi obtido durante a passagem suíno/camundongo, e os demais após as passagens camundongo/camundongo: um (16,7%) na primeira e na segunda, e três (50%) na quarta passagem.

Uma vez inoculados nos animais experimentais, três isolados (50%) causaram a toxoplasmose aguda, e os demais causaram a forma crônica, diagnosticada através da presença de cistos nos tecidos.

A forma clínica cursou com variados sinais clínicos, predominando pelos arrepiados, cianose e apatia (Quadro 1). O tempo decorrido entre a inoculação e o surgimento de sinais clínicos foi de 9 a 18 dias. O período entre a inoculação e a morte dos camundongos foi de 12 a 26 dias. Constatou-se, nos três isolados, que esses períodos são inversamente proporcionais ao inóculo.

Na avaliação de patogenicidade e virulência dos três isolados (97, 98 e 100) que causaram a fase aguda, com líquido ascítico com a presença de taquizoítos, foram utilizados diferentes inóculos. A evolução clínica dos camundongos inoculados encontra-se no Quadro 2. O isolado 100, oriundo de Piratini, foi capaz de causar sinais clínicos e morte nos animais experimentais com menor inóculo (1000 taquizoítos), e em menor espaço de tempo (9 dias). Os isolados 97 (Capão do Leão) e 98 (Cerrito) só foram capazes de provocar a morte dos camundongos com inóculo 100 vezes maior (100.000 taquizoítos).

Todos os animais experimentais (mortos pela toxoplasmose ou eutanasiados), foram submetidos a análise macroscópica de órgãos e histopatológica, totalizando 105 animais, divididos em 21 grupos: 18 dos que cursaram a forma aguda (3 isolados x 6 inóculos) mais os 3 isolados que causaram a forma crônica da doença (sorologia positiva).

A presença de cistos, alterações macroscópicas e microscópicas estão expostas no Quadro 3. Foram encontrados cistos nos tecidos de camundongos que receberam os maiores inóculos dos isolados de forma aguda, bem como naqueles da forma crônica (inóculo não quantificado).

Dos 21 grupos estudados, foram encontradas estruturas morfológicamente compatíveis com cistos de *T. gondii* em 52,4% (11/21), sendo 23,8% (5/21) no pulmão e fígado, 4,8% (1/21) no pulmão, fígado e encéfalo, 19% (4/21) no pulmão e 4,8% (1/21) no fígado. As lesões microscópicas encontradas foram características de pneumonia e hepatite, geralmente associadas à presença de cistos do parasito nesses órgãos.

Discussão

A frequência de anticorpos para *T. gondii* encontrado (66,7%) é relativamente alta, se comparada aos resultados de outros estudos, com suínos do mesmo tipo de criação, no Brasil: prevalências de 50% em Belém, 30,76% em Ilhéus, 43,7% em Rondônia e 36,2% na Paraíba (Freitas et al. 2009, Bezerra et al. 2009, Cavalcante et al. 2006, de Azevedo et al. 2010).

Em suínos de criação industrial, essa prevalência tende a ser menor: 7,64% no Rio de Janeiro, 13,4% na microregião de Toledo (PR), 12,5% em Pernambuco e 12,8% no Mato Grosso do Sul (Luciano et al. 2011, Piassa et al. 2010, Fernandes et al. 2012, Muraro et al. 2010). Isso se deve, provavelmente, ao sistema de criação dos animais, uma vez que, os de criação artesanal têm maior risco de infecção, por estarem mais expostos às formas infectantes do protozoário, presentes no solo, na água e nos diferentes alimentos que recebem (Bezerra et al. 2009).

O resultado obtido no presente estudo pode ser um indicativo do *status* sanitário, e do risco de infecção dos suínos das propriedades, ou região (Damriyasa et al. 2004), uma vez que foram encontrados animais soropositivos em dois terços dos municípios avaliados, indicando a exposição desses animais ao protozoário, e o risco que o consumo de sua carne representa aos humanos.

A taxa de isolamento do parasito, de 75% dos suínos soropositivos, foi superior à obtida por Santos et al (2005), no Estado de São Paulo, de 25% , a partir de coração, cérebro e língua de suínos soropositivos. O uso de amostras de suínos de criação artesanal, coletadas no momento do abate, pode ter sido importante no sucesso do isolamento obtido no presente estudo, pois esse sucesso varia de acordo com o bioensaio e o procedimento de escolha das amostras (Dubey 2009). Segundo o autor, a taxa de isolamento aumenta quando o bioensaio é feito em gatos, porque a quantidade de tecido ingerida por esse hospedeiro (cerca de 500g) é muito maior do que a inoculada em camundongos.

A variação de patogenicidade e virulência do *T. gondii* presente na região estudada torna-se evidente, quando 50% dos isolados causaram infecção aguda nos camundongos, cursando com sinais clínicos e morte, e os demais causaram infecção crônica, sem alterações clínicas ou morte dos animais experimentais. Resultados similares foram obtidos por Dubey et al (2007) ao avaliarem isolados de galinhas caipiras desta mesma região (44% causaram a morte dos camundongos inoculados). Segundo Dubremetz & Lebrun (2012) as diferenças de patogenicidade e virulência são mais evidentes nas condições extremas, seja de malignidade, como é o caso de amostras que matam os camundongos, no estágio agudo da doença, seja de benignidade, representada pelas amostras ditas não patogênicas que permitem a sobrevida prolongada dos camundongos infectados.

Su et al., (2006) definem virulência de uma cepa com base na mortalidade de camundongos infectados, e a dividem em três grupos: virulenta (causa 100% de mortalidade dentro de, no máximo, 4 semanas), medianamente virulenta (mortalidade entre 30% e 99%) e não virulenta (mortalidade inferior ou igual a 30%). No presente estudo três isolados, 97 (10^4 , 10^5 , 10^6), 98 (10^5 e 10^6) e 100 (10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6) demonstraram-se virulentos, enquanto que os isolados 99, 101 e 103 não são virulentos, segundo esse conceito. O tempo decorrido desde a inoculação até a morte dos camundongos (12 a 26 dias) também foi similar ao verificado por Dubey et al (2007) com isolados obtidos de galinhas, desta mesma região (13 a 23 dias).

O menor inóculo capaz de levar os camundongos à morte foi de 1000 (10^3) taquizoítos. Mitsuka et al (1998), avaliaram três isolados de suínos das cidades de Londrina, PR e Erechim, RS, e constataram que o inóculo capaz de matar todos os camundongos inoculados foi de 10^4 taquizoítos, 10 vezes maior que o aqui verificado. Segundo os referidos autores, todos os isolados mostraram-se altamente virulentos, pois mataram todos os animais (camundongos suíços albinos). Nesse mesmo trabalho, não foram encontradas estruturas compatíveis com cistos de *T. gondii* nos sobreviventes, após 50 dias da inoculação. Este fato revela diferenças entre a capacidade cistogênica de isolados, pois, no presente estudo, todos os isolados foram capazes de induzir à formação de cistos nos animais inoculados.

A densidade de cistos na amostra é relevante para o achado dessas estruturas através de análises histológicas. Kuticic & Wikerhauser (2000) encontraram cistos de *T. gondii* em apenas três das 716 amostras de camundongos inoculados com órgãos de galinhas, enquanto que Sreekumar et al (2003) não encontraram cistos em 133 amostras de camundongos também inoculados com órgãos desse hospedeiro. Quando foi analisado o efeito de diferentes inóculos (concentrações de taquizoítos), juntamente com os animais que apresentaram infecção crônica, sobre os camundongos, observou-se que, dos 21 grupos estudados quanto às alterações patológicas, foram encontrados cistos em 52,4% (11/21). Garcia et al (2006) não encontraram cistos de *T. gondii* em

98 amostras de tecidos de suínos experimentalmente inoculados com a cepa avirulenta VEG, embora o parasito tenha sido isolado por ensaio em camundongos.

O fato de terem sido encontradas estruturas morfológicamente compatíveis com cistos de *T. gondii* em amostras de pulmão e fígado dos camundongos inoculados, revela que os isolados estudados não apresentaram a característica neurotrópica, comum em *T. gondii* (Dubey et al 2004). Jacobs & Melton (1966) isolaram *Toxoplasma* de ovários e músculo das pernas de galinhas, em Maryland (USA), mas nenhum parasito foi isolado do cérebro de tais aves. Mais tarde, Dubey et al (2004) isolaram o parasito de 10 galinhas no Peru, sendo todos os isolados obtidos do coração das aves, enquanto que os inóculos dos cérebros destas, não resultou em isolamento. Mesmo em animais de pequeno porte, o encontro de cistos de *T. gondii* nos tecidos pode ser dificultado pela baixa quantidade dos mesmos (Dubey et al. 2005).

A capacidade cystogênica de todos os isolados aqui obtidos, mesmo aqueles que apresentaram infecção aguda, indica uma maior probabilidade da presença dessas estruturas nos tecidos de suínos de criação artesanal, podendo acometer outros animais que habitam o mesmo ambiente. Com isso, sugere-se que o risco de infecção humana pela ingestão de carne de suínos contaminada com cistos de *T. gondii* é elevado na região estudada.

Agradecimentos.- À equipe do Biotério Central (UFPel), do Laboratório Regional de Diagnóstico (UFPel) e do Laboratório de Parasitologia do Instituto de Biologia (UFPel), pelo empenho em todas as etapas desse estudo.

Referências

- Barbosa A.J.A. 1988. As técnicas de imuno peroxidase no estudo da etiologia das doenças infecciosas e parasitárias. Rev Soc Bras Med Trop. 21:1-6.
- Belfort-Neto R., Nussenblatt V., Rizzo L., Muccioli C., Silveira C., Nussenblatt R., Khan A., Sibley L.D., Belfort-Jr R. 2007. High prevalence of unusual genotypes of *Toxoplasma gondii* infection in pork meat samples from Erechim, Southern Brazil. An Acad Bras Cienc. 79(1):111-114
- Bezerra R.A., Carvalho F.S., Guimarães L.A., Rocha D.S., Maciel BM, Wenceslau AA, Lopes CWG, Albuquerque GR. 2012. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolation from pigs intended for human consumption in Brazil. Vet.Parasitol. 189:153-161
- Bezerra R.A., Paranhos E.B., Del'Arco A.E., Albuquerque G.R. 2009. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 18(3):78-80
- Cademartori B.G., Farias N.A.R., Brod C.S. 2008. Seroprevalence and risk factors to *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women of Pelotas, south of Brazil. Rev Panam Infectol. 10(4): 30-35
- Camargo, M.E. 1974. Introdução às técnicas de imunofluorescência. Rev Bras Patol Clin. 10:143-169.
- 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. J Parasitol 92(4): 863-864
- Colombo F.A., Vidal J.E., Oliveira A.C.P., de Hernandez A.V., Bonasser Filho F., Nogueira R.S., Focaccia R., Pereira-Chiocola V.L. 2005. Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of molecular and immunological methods using peripheral blood samples. J Clin Microbiol. 43:5044-5047.
- Damriyasa I.M., Bauera C., Edelhofer R., Failing K., Lindd P., Petersene E., Scharesf G., Tenterg A.M., Volmerh R., Zahner H. 2004. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. And *Neospora caninum* sows. Vet Parasitol., 126:271-286.
- de Azevedo S.S., Pena H.F.J., Alves C.J., Guimarães-Filho A.A.M., Oliveira R.M., Maksimov P., Schares G., Gennari S.M. 2010. Prevalence de anti-*Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 19(2):80-84
- De mouro L., Bahia-oliveira L.M.G., Wada M.Y., Jones J.L., Tuboi S.H., Carmo E.H., Ramalho W.M., Camargo, N.J., Trevisan R., Graça R.M.T., Silva A.J., Moura I, Dubey J.P., Garret D.O. 2006. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. Emer Inf Dis. 12:326-329.

- 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 seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 47(4): 185-189.
- Dubey J.P. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet Parasitol*. 106:121-153.
- Dubey J.P. 2009. Toxoplasmosis in pigs – the last 20 years. *Vet Parasitol*. 164(2-4):89-103
- Dubey J.P. 2010. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 1 – 313
- Dubey J.P., Jones, J.L. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol*. 38:1257-1278.
- Dubey J.P., Bhaiyat M.I., de Allie C., Macpherson C.N.L., Sharma R.N., Sreekumar C., Vianna M.C.B., Shen S.K., Kwok O.C.H., Miska K.B., Hill D.E., Lehmann T. 2005. Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens in Grenada. *J Parasitol*. 91(3):557-560
- Dubey J.P., Sundar N., Gennari S.M., Minervino A.H.H., Farias N.A.R., Ruas J.L., dos Santos T.R.B., Cavalcante G.T., Kwok O.C.H., Su C. 2007. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. *Vet Parasitol*. 143(2):182-188.
- Dubey J. P.; Sundberg, J. P.; Matiuck, S. W. 1981. Toxoplasmosis associated with abortion in goats and sheep in Connecticut. *Ame J Vet Res*. 42:1624-1626.
- Dubey J.P. 1998. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Vet. Parasitol*. 74:75-77.
- Dubremetz J. F., Lebrun M. 2012. Virulence factors of *Toxoplasma gondii*. *Microbes Infec*. 14:1403-1410.
- Farrel R.L., Docton F.L., Chamberlain D.M., Cole, C.R. 1952. *Toxoplasma* isolated from swine. *Am J Vet Res Chicago*. 13:181-185.
- Fernandes E.F.T.S., Fernandes M.F.T.S., Kim P.C.P., de Albuquerque P.P.F., Neto O.L.S., Santos A.S., de Moraes É.P.B.X., de Moraes E.G.F., Mota R.A. 2012. Study of *Toxoplasma gondii* in slaughtered swine in the state of Pernambuco, Brazil. *J Parasitol*. 98(3):690-691
- Ferreira A.d.M., Vitor R.T.G., Melo M.N. 2006. Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Infect Genet Evol*. 6:22-31.
- Ferreira A.M., Martins M.S., Vitor R.W.A. 2001. Virulence for Balb-c mice and antigenic diversity of eight *Toxoplasma gondii* strains isolated from animals and humans in Brazil. *Parasite* 8:99-105.
- Frazão-Teixeira E., de Oliveira F.C.R., Pelissari-Sant'Ana V., Lopes C.W.G. 2006. *Toxoplasma gondii* em encéfalos de suínos comercializados no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras Parasitol Vet*. 15(1): 33-36.
- Freitas J.A., Oliveira J.P., Ramos O.S., Ishizuka M.M. 2009. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos abatidos sem inspeção em Belém. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 61(5):1230-1232.
- Garcia J.L., Gennari S.M., Machado R.Z., Navarro I.T. 2006. *Toxoplasma gondii*: Detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Exp Parasitol*. 113(4):267-271.
- Howe D.K.; Sibley L.D. 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect. Dis*. 172:1561-1566.
- Jacobs L., Melton M.L. 1966. Toxoplasmosis in chickens. *J Parasitol*. 52:1158-1162.
- Jacobs L.; Melton M.L. 1954. Modification in virulence of a strain of *Toxoplasma gondii* by passage in various host. *Am J Trop Med Hyg*. 3:447-57.
- Jongert E., Melkebeek V., De Craeye S., Dewit J., Verhelst D., Cox E. 2008. An enhanced GRA1-GRA7 cocktail DNA vaccine primes anti-Toxoplasma immune responses in pigs. *Vac*. 26:1025-1031.
- Kaufman H.E., Melton M.L., Remington J.S., Jacob, L. 1959. Strains differences in *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol*. 45:189-90.
- Kaufman H.E.; Remington J.S.; Jacobs L. 1958. Toxoplasmosis: The nature of virulence. *Am. J.Ophth*. 46:255-61.
- Khan A., Jordan C., Muccioli C., Vallochi A.L., Rizzo L.V., Belfort Jr R., Vitor R.W.A., Silveira C., Sibley, L.D. 2006. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg. Infect. Dis*. 12:942-949.

- Kijlstra A., Meerburg B., Cornelissen J., De Craeye S., Vereijken P., Jongert E., 2008. The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. *Vet. Parasitol.* 156: 183–190.
- Kuticic V., Wikerhauser T. 2000. A survey of chickens for viable toxoplasms in Croatia. *Acta Vet Hung.* 48:183-185.
- Lehmann T., Marcet P.L., Graham D.H., Dahl E.R., Dubey J.P., 2006. Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci.* 103:11423–11428.
- Luciano D.M., Menezes R.C., Ferreira L.C., Nicolau J.L., das Neves L.B., Luciano R.M., Dahroug M.A.A., Amendoeira M.R.R. 2011. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cattle and pigs slaughtered, State of Rio de Janeiro. *Rev Bras Parasitol Vet* 20(4):351-353
- Mitsuka R., Beckner da Silva A.C., Navarro I.T., Breganó J. W., Vidotto O. 1998. *Toxoplasma gondii*: Avaliação da virulência de oito amostras. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* 1: 29-31.
- Muraro L.S., Caramori Júnior J.G., Amendoeira M.M.R., Pereira J.A., Oliveira Filho J.X., Vicente R.T., Neves L.B., Nicolau J.L., Igarashi M., Moura S.T. 2010. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in swine matrices in Nova Mutum e Diamantino, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 19(4): 254-255.
- Pena H.F.J., Gennari S.M., Dubey J.P., Su C. 2008. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *Int J Parasitol.* 5:561-569.
- Pereira S.D. 2004. Conceitos e definições em Epidemiologia importantes para Vigilância Sanitária. Centro de Vigilância sanitária. (On-line). Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br> acesso em: 05 fev. 2014.
- Piassa F.R., de Araújo JB, da Rosa RC, Mattei RJ, da Silva RC, Langoni H, da Silva AV. 2010. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in certified and non-certified pig breeding farms in the Toledo microregion, PR, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 19(3): 152-156.
- Santos C.B., Carvalho A.C., Ragozo A.M., Soares R.M., Amaku M., Yai L.E., Dubey J.P., Gennari S.M. 2005. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo state, Brazil. *Vet. Paras.* 131:207-211.
- Sreekumar C., Graham D.H., Dahl E., Lehmann T., Raman M., Bhalerao D.P., Vianna M.C., Dubey J.P. 2003. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Índia. *Vet Parasitol.* 118: 187-194.
- Su C., Zhang X., Dubey J.P. 2006. Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites. *Int J Parasitol.* 36, 841–848.
- Tsunematsu Y., Shioiri K., Kusano N. 1964. Three cases of lymphadenopathy toxoplasmic with special reference to the application of fluorescent antibody technique for detection of *Toxoplasma* in tissue. *Jpn J exp Med* 34: 217-230.
- Velmurugan G.V., Su C., Dubey J.P. 2009. Isolate Designation and characterization of *Toxoplasma gondii* Isolates from Pigs in the United States. *J Parasitol.* 1:95-99.

Os Quadros

Quadro 1. Frequência dos sinais clínicos verificados em camundongos inoculados com *T. gondii* de três diferentes isolados de suínos naturalmente infectados, do sul do RS (n=30 camundongos /isolado)

Sinais Clínicos (% de animais)	Isolados			% Geral
	97	98	100	
Ascite	33,3	10	16,7	20
pêlo arrepiado	50	50	66,7	55,6
Dispneia	16,7	-	50	22,2
Tremores	33,3	33,3	16,7	27,8
Incoordenação	16,7	50	-	22,2
Apatia	33,3	33,3	66,7	44,4
Inanição	16,7	-	66,7	27,8
Emagrecimento	16,75	33,3	66,7	39
Desidratação	33,3	-	33,3	22,2
Cianose	50	50	66,7	55,6
Diarréia	-	10	16,7	8,9

Quadro 2. Evolução clínica da infecção por *T. gondii* em camundongos, a partir de três diferentes isolados de suínos, segundo o inóculo

Isolado	Inóculo (taquizoítos)	Início dos Sinais Clínicos (d.p.i)	Morte (d.p.i)
97	10 ⁶	10	13-15
97	10 ⁵	13	16
97	10 ⁴	17	-
98	10 ⁶	14	18-21
98	10 ⁵	18	23-25
100	10 ⁶	9	13
100	10 ⁵	11	12-16
100	10 ⁴	16	21
100	10 ³	18	22-26

*d.p.i. – dias pós-inoculação

Quadro3. Alterações patológicas e presença de cistos em órgãos de camundongos inoculados com *T. gondii* isolados de suínos soropositivos

Isolado	Inóculo (taquizoítos)	Cisto	Alterações Patológicas	
			Macroscópicas	Microscópicas
97	10 ⁶	P	S/A	Pneumonia e Hepatite
97	10 ⁵	P	S/A	Pneumonia
97	10 ⁴	N	S/A	Pneumonia
97	10 ³	N	S/A	S/A
97	10 ²	N	S/A	S/A
97	10 ¹	N	S/A	S/A
98	10 ⁶	P	S/A	Pneumonia
98	10 ⁵	P	S/A	Pneumonia
98	10 ⁴	N	S/A	S/A
98	10 ³	N	S/A	S/A
98	10 ²	N	S/A	S/A
98	10 ¹	N	S/A	S/A
100	10 ⁶	P	Hepatomegalia e Esplenomegalia	Pneumonia e Hepatite
100	10 ⁵	P	Hepatomegalia Esplenomegalia	Pneumonia e Hepatite
100	10 ⁴	P	S/A	Pneumonia e Hepatite
100	10 ³	P	S/A	Pneumonia e Hepatite
100	10 ²	N	S/A	Hepatite
100	10 ¹	N	S/A	S/A
99		P		Pneumonia e Hepatite
101		P	S/A	Hepatite
103		P	S/A	S/A

*P – presença de cisto. *N– ausência de cisto. *S/A – sem alterações.

6 Conclusões Gerais

- *Toxoplasma gondii* está presente na criação artesanal de suínos na região estudada;
- A infecção por *T. gondii* em suínos na região sul do Rio Grande do Sul, ocorre por cepas com diferentes graus de patogenicidade e virulência em camundongos;
- O risco de infecção humana pela ingestão de carne crua ou mal passada de suínos criados artesanalmente é alto, pois os isolados possuem alta capacidade cistogênica em camundongos;
- Os isolados obtidos não apresentaram característica neurotrópica, em camundongos;
- Na região, isolados de *T. gondii* são patogênicos e virulentos para camundongos, indicando risco para as demais espécies, inclusive a humana.