# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - AMAZÔNIA ORIENTAL UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

### STELA APARECIDA AVELAR BARBOSA

## PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma gondii PELO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA EM FRANGOS DE CORTE ABATIDOS PARA CONSUMO

#### STELA APARECIDA AVELAR BARBOSA

## PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma gondii PELO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA EM FRANGOS DE CORTE ABATIDOS PARA CONSUMO

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Sanidade Animal.

Orientador Prof. Dr. José de Arimatéa Freitas

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) — Biblioteca Centro de Ciências Agrárias / UFPA, Belém-PA

Barbosa, Stela Aparecida Avelar

Pesquisa de anticorpos anti-Toxoplasma gondii pelo teste de aglutinação modificada em frangos de corte abatido para consumo / Stela Aparecida Avelar Barbosa; orientador, José de Arimatéa Freitas. - 2007.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Núcleo de Estudos em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Amazônia Oriental, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2007.

1. Parasitologia veterinária. 2. Frango de corte – Doenças. 3. Toxoplasma gondii. 4. Toxoplasmose em animais. I. Título.

CDD 636.089696

#### STELA APARECIDA AVELAR BARBOSA

## PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma gondii PELO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA EM FRANGOS DE CORTE ABATIDOS PARA CONSUMO

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Sanidade Animal.

Data da aprovação. Belém - PA: 30/04/2007

Banca Examinadora

Prof. Dr. José de Arimatéa Freitas Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Cláudio Vieira Universidade Federal Rural da Amazônia

Profa.Dra.Vânia Maria T.Moreira Universidade Federal Rural da Amazônia

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial, ao meu marido Ribamar, companheiro, amigo, pessoa insígne que abnegou seu tempo, com amor, estímulo, apoio e muita dedicação.

E aos meus filhos Rodrigo e Laura, jóias raras que Deus me confiou, para acompanhar e apoiar ao longo dos primeiros passos no caminho da vida, pelo sacrifício de momentos tão preciosos em função da minha formação profissional.

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a **DEUS**, pela minha existência e por ter indicado o caminho certo para eu prosseguir e mostrou-me que com muito empenho as dificuldades normalmente são menos do que parecem.

Aos meus pais, irmãos, tios, marido e filhos, pela dedicação e ajuda incondicional.

Ao professor e orientador, Dr. José de Arimatéa Freitas, por ter acreditado em mim e proporcionado a oportunidade de realizar mais uma etapa da minha vida profissional. A esta pessoa dedico profunda admiração, pelos conhecimentos transmitidos, por seu profissionalismo e amizade. Minha eterna gratidão.

A Universidade Federal do Pará, pela oportunidade de estudar nesta instituição.

A todos os professores pela formação e disponibilidade acadêmica.

Ao professor Dr. Cláudio Vieira, pela sua incondicional contribuição nas análises dos resultados, e participação da banca examinadora.

A professora Dra. Vânia por ter mais uma vez participado da banca examinadora e pelas suas contribuições.

As professoras, Dra.Nazaré e Dra.Hilma, pelas suas importantes contribuições, na banca da qualificação.

A bibliotecária Sra. Vera Fadul, pela seu importante auxílio e disponibilidade na confecção desta dissertação.

Aos colegas do curso pelos muitos momentos de saudável convivência e amizade.

Ao Frigorífico Solon, Americano e abatedouros informais, nas coletas de amostras.

Ao Ministério da Agricultura e ADEPARA que serviram de mediadores dos frigoríficos e concederam autorização aos seus técnicos para orientar nos locais de coleta.

Ao Dr. Paulo, Fiscal Federal Agropecuário do Ministério da Agricultura, que obteve autorização junto ao frigorífico para a coleta de sangue e pelo seu empenho e dedicação.

A Dra. Ana Júlia, Médica Veterinária da ADEPARÁ que com muito carinho me recebeu e me ajudou na coleta de material.

Ao Laboratório LANAGRO pela ajuda concedida para centrifugação das amostras.

Ao colega de profissão, Médico Veterinário do LANAGRO, Dr. Ofir, pela paciência e prontidão em contribuir para a realização desta pesquisa.

A USP e a Dra. Gennari, por permitir a realização do teste sorológico, no Laboratório de Doenças Parasitárias, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

A Dra. Sandra Nishi, pela presteza, sugestões concedidas e análises laboratoriais.

Ao Dr. Dubey, pesquisador do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que forneceu os antígenos.

A todos os animais envolvidos em experimentos, pois seus sacrifícios contribuem para o progresso da humanidade. Meus agradecimentos especiais aos frangos, patos, perus, emas, avestruzes, pombos, codornas, canários...

...À todos, a minha gratidão.

#### **RESUMO**

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma* gondii, comum nos animais domésticos e que tem sido objeto de estudos no Brasil e em todas as partes do mundo. Este parasita intracelular obrigatório infecta mamíferos e aves e tem nos felídeos seus hospedeiros definitivos. Nas aves, a infecção toxoplásmica pode ser assintomática, a forma mais provável de contaminação é através da ingestão de oocistos presentes no solo, água e rações contaminadas e a carne de frangos uma das principais vias de transmissão para o homem. Com objetivo de estudar a ocorrência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em frangos de corte abatidos para consumo na região metropolitana de Belém, 300 amostras de soro procedentes de abate em escala industrial e clandestino, foram submetidas ao Teste de Aglutinação Modificada (MAT). Anticorpos anti-T. gondii foram detectados em uma (1/300, 0,33%) amostra, procedente de abate clandestino e em nenhuma amostra procedente de abate em escala industrial. Embora as amostras de soro de frangos de corte procedentes de abate em escala industrial não tenham demonstrado anticorpos anti-T. gondii, recomenda-se a adoção rotineira de pesquisa sorológica desse organismo em qualquer tipo de abate e no nível de consumo como medida de prevenção ao risco sanitário humano e estudos para determinar a real importância das galinhas de criação livre na epidemiologia da toxoplasmose em nosso meio.

**Palavras-chaves** : *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmose. Frango de corte. Vigilância no abate de aves. Teste de Aglutinação Modificado.

#### **ABSTRACT**

The toxoplasmosis is a zoonosis that affect man and domestic animals all over the world. The *Toxoplasma gondii* is an obligatory intracellular parasite which infects mammals and birds, has in felidae their definitive hosts. Toxoplasmic infection in birds can be asymptomatic, the most probable form of contamination through the ingestion of oocysts presente in soil, water and polluted rations and the chicken's meat the one of the main transmission roads for the man. With the objective of surveying the occurrence of anti-Toxoplasma gondii antibodies in cut chickens abated for consumption in the metropolitan area of Belém, 300 serum samples coming from industrial and clandestine abbatoir houses, were submitted to the Modified Agglutination Test (MAT). Anti-T. gondii antibodies were detected in one (1/300, 0,33%) sample, coming from clandestine slaughter house and none coming from industrial slaughter house. Although the chicken's meat coming from industrial slaughter house apparently doesn't offer risk for human contamination by T. gondii through ingestion, the adoption of the serologic research is recommended in any type of slaughtering and in the consumption level as prevention measure. Further studies are necessary to determine the importance of free birds breading as etep in the epidemiology of the toxoplasmosis.

**Key-Words**: *Toxoplasma gondii*, Toxoplasmosis, Chicken, Modified Agglutination Test, Food surveillance.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Oocisto contendo dois esporocistos	17
Figura 2- Taquizoítos de <i>T. gondii</i>	18
Figura 3- Cisto tecidual contendo bradizoíto	19
Figura 4- Ciclo Biológico do Toxoplasma gondii	21

### LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Frequência de amostras de soro de aves de corte coletadas de acordo com o	)
	local de abate	. 35
	Freqüência de amostras de soro de aves de corte coletadas de acordo com o município de procedência.	
Tabela 3-	Resultado do Teste de Aglutinação Modificada para detecção de Anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em soros de frangos de corte, consumidos no	
	municínio de Relém	37

#### LISTA DE ABREVIATURAS

T. gondii – Toxoplasma gondii.

MAT – Teste de Aglutinação Modificada.

AFSSA – Agence Française de Securité Sanitaire des Aliments

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde

PCR - Reação em Cadeia Polimerase

ELISA - Ensaio Imunoenzimático

HAI – Hemaglutinação Indireta

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

DNA - Ácido Desoxiribonucléico

HIV - Vírus da Imunodeficiência Adquirida

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1.HISTÓRICO	15
3.2.AGENTE ETIOLÓGICO	16
3.2.1. Taxonomia	16
3.2.2. Morfologia	17
3.2.2.1. Oocistos	17
3.2.2.2. Taquizoítos	18
3.2.2.3. Bradizoítos	19
3.2.3. Ciclo Biológico	20
3.3. FONTES DE INFECÇÃO E VIAS DE TRANSMISSÃO	21
3.4. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	22
3.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	24
3.5.1. Diagnóstico Sorológico	25
3.6. Toxoplasma gondii EM AVES	26
3.7. ASPECTOS ZOONÓTICOS (SAÚDE PÚBLICA)	28
3.8. MEDIDAS DE CONTROLE	29
4. MATERIAL	32
5. MÉTODO	33
5.1. TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA (MAT)	
5.1.1. Preparo das amostras de soro	33
5.1.2. Preparo de antígenos	33
5.1.3. Preparo de placas de MAT	34
5.1.4. Leitura a reação	34
6. RESULTADOS	35
7. DISCUSSÃO	38
8. CONCLUSÕES	41
9. RECOMENDAÇÃO	42
DEEEDÊNCIAS	12

#### 1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma importante zoonose cosmopolita, frequentemente observada em nosso meio. É muito disseminada tanto em regiões tropicais como temperadas, nos vários níveis sócio-econômicos. Tem como agente infeccioso o *Toxoplasma gondii*, um protozoário parasita intracelular obrigatório, que afeta além do homem, as aves, os mamíferos domésticos e silvestres (ACHA; SZYFRES, 1986; MARTINS; VIANA, 1998; GARCIA et al., 2000).

O homem e outros animais são hospedeiros intermediários que contraem o parasito através da ingestão de oocistos infectantes ou cistos presentes no solo, água e alimentos, sobretudo os de origem animal, especialmente os crus ou mal cozidos (SILVA; LANGONI, 2000).

A toxoplasmose animal costuma ser assintomática, porém algumas espécies podem apresentar a infecção aguda. As manifestações clínicas no animal podem estar associadas à idade muito jovem ou à imunossupressão. Entre os sinais clínicos mais evidentes estão a deficiência neurológica, abortos, mortalidade neonatal e defeitos congênitos (DUBEY, 1996).

Nas aves os sinais clínicos da toxoplasmose são pouco evidentes, apesar de cistos do parasita terem sido isolados na musculatura e cérebro (DUBEY; RUFF; CAMARGO, 1993; KANETO et al, 1997).

A importância da toxoplasmose animal decorre, em primeiro lugar, do fato dos animais infectados serem fonte direta ou indireta para o homem; em segundo, pelos danos diretos que a doença provoca nos animais de interesse econômico, como diminuição da produção e da produtividade, decorrentes da morbidade e mortalidade (OLIVEIRA et al., 2001).

A prevenção da infecção em animais baseia-se principalmente nos cuidados com a alimentação e a higiene dos criatórios. Desse modo, os gatos não devem ter acesso ao criatório, pois normalmente defecam no solo e eliminam oocistos que contaminarão os animais (MARTINS; VIANA, 1998; SILVA; LANGONI, 2000).

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose animal e humana desempenha um papel fundamental, pois esta doença é confundida com inúmeras outras de sintomatologia comum, necessitando do mesmo para a confirmação da enfermidade. O Teste de Aglutinação Modificada (MAT) demonstrou ser um excelente método de diagnóstico da toxoplasmose em aves de criação livre e em escala industrial, devido sua alta sensibilidade (DUBEY, 1986, 1996; DUBEY et al., 2002).

Face a importância que a infecção por *Toxoplasma gondii* tem em saúde pública, a deficiência ou mesmo ausência de medidas e ações de vigilância sanitária no consumo e no abate de aves em escala industrial, objetiva-se com a presente abordagem diagnosticar a ocorrência de infecção por *T. gondii* em aves abatidas para consumo.

### 3. OBJETIVO

• Estudar a ocorrência do *Toxoplasma gondii* em aves abatidas para consumo, procedentes de dois abatedores com inspeção oficial e um clandestino.

#### 3- REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. HISTÓRICO

Em 1908, Nicole e Manceaux descreveram um parasita intracelular observado no baço e fígado de um roedor do norte da África, o *Ctenodactylus gundi*. Por acreditarem que se tratava de uma forma particular de Leishmania, os cientistas o denominaram de *Leishmania gondii*. Neste mesmo ano, no Brasil, Splendore isolou em um coelho de laboratório o parasita, comparando-o também com o agente da leishmaniose visceral. No ano seguinte, os pesquisadores franceses retificaram sua posição anterior e, em um novo informe à Academia de Ciência de Paris, renominaram o parasito como *Toxoplasma gondii* (Toxo=arco), devido a sua forma arqueada (LARSON, 1989; DUBEY, 1996). Nicolle e Manceaux (1909 apud PIZZI, 1997) foram os primeiros pesquisadores da área médica que descreveram o agente etiológico e sua ação patogênica.

A toxoplasmose foi descrita nas mais diversas espécies de animais: em cães na Itália por Melo (1910 apud DUBEY, 1994); em ovinos nos Estados Unidos por Olason e Monlux (1942 apud ULON, 1996); Farrel et al (1952 apud ULON, 1996) descreveram a toxoplasmose suína natural nos Estados Unidos; Feldman e Miller (1956 apud ULON, 1996) observaram as evidências de infecção em caprinos num rebanho do Estado de Nova York.

Em aves, o *T. gondii* foi observado pela primeira por Carini, em 1911, no fígado e baço de pombos, no Estado de São Paulo, Brasil (DUBEY, 2002).

Após a descoberta do *T. gondii* vários pesquisadores observaram parasitas morfologicamente semelhantes em diversos animais, que foram denominados de acordo com a espécie animal na qual eram detectados como *T. canis, T.columbae, T. gallinarum, T.cuniculi*. Porém, em 1939, Sabin (1939 apud FREYRE, 1989; PIZZI, 1997) constatou ser uma única espécie de protozoário. Finalmente, só foi possível confirmar a infecção nas espécies animais em 1948, quando os pesquisadores Sabin e Feldman (1948 apud DUBEY, 2002) realizaram teste do corante, "Dye Test".

O primeiro caso de toxoplasmose humana foi descrito por Castelari, em 1913, em um menino que apresentava quadro febril e esplenomegalia. Entretanto o *T.gondii* só foi isolado pela primeira vez em 1923, em Praga, por Janku em cortes histológicos do olho de uma

criança que apresentava hidrocefalia, microftalmia. Cinco anos depois Levatidis relacionou a hidrocefalia com a toxoplasmose congênita (PIZZI, 1997).

No Rio de Janeiro, em 1927, relatou a presença de microrganismos semelhantes ao *T. gondii* em cortes histológicos de cérebro e músculos esqueléticos de um recém-nascido que faleceu, sugerindo a possibilidade de infecção congênita, entretanto a doença congênita só foi descoberta em 1937 por Wolf e Cowen (LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997).

No ano de 1956, Weinman e Chandller (1956 apud LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997) revelaram em suas pesquisas sobre uma fonte endêmica de que os suínos albergariam na carne protozoário até o momento do cozimento. Sendo confirmado, em 1960, por Jacobs, Remington e Melton (1960 apud LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997), que elucidaram o significado epidemiológico da forma cística do *T. gondii*, comprovando a importância das carnes de animais insuficientemente cozidas, como fonte de infecção para os seres humanos.

Em 1965, Hutchison foi o primeiro a reconhecer o papel do gato no ciclo evolutivo do parasito, mostrando que estes animais poderiam eliminar o parasito nas fezes. Mas somente na década de 70 Hutchison e Frenkel descreveram o ciclo sexual do *T. gondii* no intestino delgado do gato doméstico (LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997).

#### 3.2. AGENTE ETIOLÓGICO

#### 3.2.1. Taxonomia

O nome do gênero é derivado de Toxon, palavra grega que significa arco e se refere à forma que os taquizoítos apresentam *in vitro*. O nome da espécie deriva do roedor *Ctenodactylus gondii*, do qual o *T. gondii* foi isolado pela primeira vez. O *T. gondii* é um protozoário pertencente ao reino Protista; Subreino Protozoa; Filo Apicomplexa; Classe Sporozoa; Sub-classe Coccídia; Ordem Eucoccídiida; Família Sarcocystidae; Sub-família Toxoplasmotinae; gênero *Toxoplasma*; Espécie *Toxoplasma gondii* (ACHA; SZYFRES, 1986; LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997).

#### 3.2.2. Morfologia

#### 3.2.2.1. Oocistos

São formas resultantes do ciclo sexuado do parasito, o qual ocorre apenas no interior das células do epitélio intestinal dos felídeos e que são eliminados para o ambiente (cerca de 100 mil oocistos/g) através das fezes (DUBEY; THULLIEZ, 1993; AMATO NETO et al., 1995).

Os oocistos não esporulados são esféricos ou subesféricos, podem medir de 10 a 12 µm de diâmetro. Os oocistos esporulados possuem formato subesférico ou elíptico, medindo de 11 a 13 µm (DUBEY, 1998). Cada oocisto esporulado contem no seu interior dois esporocistos medindo cerca de 6x8um e cada esporocisto possui quatro esporozoítos, que medem 2x8 µm (Figura1) (FRENKEL, 1991). Os oocistos não esporulados são excretados e, após a defecação, aproximadamente de 1 a 5 dias, dependendo das condições ambientais, ocorre a esporulação, que é o desenvolvimento dos esporozoítos, a forma infectante do parasito (DUBEY, 1994).



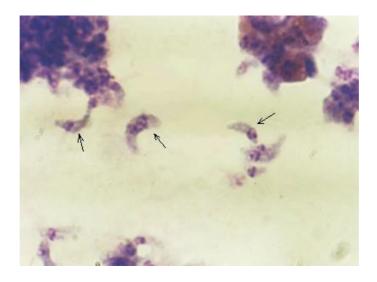
Figura 1 – Oocisto contendo dois esporocistos

Fonte: www.icb.ufmg.br/biq/prodap/2000/toxo/oocisto.html

#### 3.2.2.2. Taquizoítos.

O termo taquizoíto (tachos= velocidade) foi criado, em 1973, por Frenkel, para denominar o estágio de multiplicação rápida. Possui a forma de lua crescente com aproximadamente 2 a 6 µm de comprimento com extremidade arredondada e a anterior aguda (Figura 2) (DUBEY, 1998). Na microscopia eletrônica são observadas as seguintes estruturas: parede celular com três membranas; sistema conóide, situado na parte mais aguda do parasita, contendo enzimas que constituem o fator de penetração celular; toxonemas, formações circulares que saem da conóide; o núcleo; o retículo endoplasmático; complexo de golgi; as mitocôndrias; vacúolos; e os ribossomos (PIZZI, 1997).

O taquizoíto é a forma de multiplicação e metabolismo mais rápido produzido pelo ciclo assexuado do parasito em hospedeiro intermediário, também conhecido como forma livre ou proliferativa. É encontrado na fase aguda da infecção no interior das células infectantes sendo responsável pela sintomatologia. Também podem estar presentes no líquidos teciduais. Possui importância epidemiológica, pois são as formas transmitidas verticalmente, na gestação, representando um problema de saúde pública. Constitui a forma menos resistente do parasita, sendo facilmente destruída pelas condições ambientais adversas, pelo suco gástrico, pela desidratação ou variação osmótica (DUBEY, 1998).



**Figura 2** - Taquizoítos de *T. gondii*. Fonte: www. ufrgs.br/.../Protozoa/Toxoplasmose.htm

#### 3.2.2.3. Bradizoítos

Os bradizoítos (bradi=lento) são formas assexuadas com metabolismo lento, medindo, aproximadamente 7 por 1,5 µm (Figura 3). Estão presentes nos cistos teciduais principalmente, durante a fase crônica da infecção. Esses cistos crescem e ficam nos tecidos, sua diferenciação é por endodiogenia. Possuem afinidade pelo tecido muscular, nervoso e retina, além do figado, pulmão e rim. Mesmo com a morte do animal, os cistos se mantêm e são capazes de transmitir a doença ((DUBEY,1998).

Os cistos possuem membrana dupla sendo resistentes às enzimas proteolíticas e ao resfriamento à mais 4 °C por 30 dias. Eles medem aproximadamente, de 10 a 100 µm de diâmetro, podendo chegar a 300 µm com centenas de bradizoítos no seu interior. Esta forma de apresentação do parasita é a principal responsável pela transmissão desta zoonose, através do carnivorismo e ingestão de carne crua ou mal cozida (DUBEY, THULLIEZ, 1993; AMATO NETO et al., 1995).

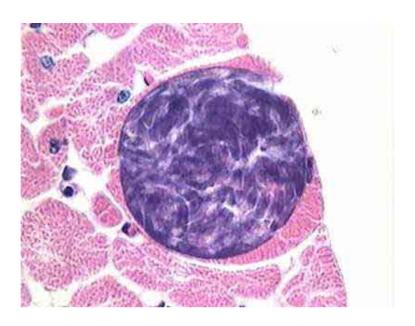


Figura 3 – Cisto tecidual contendo bradizoíto.

Fonte: www.ufrgs.br/.../Protozoa/Toxoplasma.htm

#### 3.2.3. Ciclo Biológico

O *T. gondii* apresenta um ciclo complexo que se realiza em duas fases, uma sexuada, que ocorre no tecido entero-epitelial dos felídeos (hospedeiros definitivos) e resulta na produção de oocistos e uma assexuada, e que produz nos hospedeiros intermediários taquizoítos e bradizoítos (Figura 4) (GALISTEO, 2004; DUMETRE, 2005).

Os felídeos após ingerirem tecidos contendo cistos, as paredes desses cistos são dissolvidas pelos sucos digestivos no estômago e intestino delgado. Os bradizoítos liberados penetram nas células epiteliais do intestino delgado e iniciam uma série de gerações sexuadas (DUBEY, 1998). Os esporozoítos, bradizoítoss ou taquizoítos, ao penetrarem no epitélio intestinal do gato sofrem processo de multiplicação (AMATO NETO et al., 1995). O rompimento da célula parasitada libera merozoítos, que penetram em novas células epiteliais e se transformam nas formas sexuadas masculina e feminina, o os gametócitos, que após um processo de maturação formam os gametas masculinos móveis microgametas, e femininos móveis, macrogameta. O macrogameta permanecerão dentro de uma célula epitelial, enquanto que os microgametas sairão de sua célula e irão fecundar o macrogameta. Após o gameta masculino fertilizar o gameta feminino, uma parede é formada ao redor do gameta feminino (zigoto) a fim de formar o oocisto (DUBEY, 1998 GALISTEO, 2004). O gameta feminino evoluirá dentro do epitélio, formando uma parede externa dupla, dando origem ao oocisto; depois a célula epitelial, em algum dia, sofrerá rompimento, liberando oocisto imaturo (LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997; GALISTEO, 2004).

Os oocistos não estão esporulados quando eliminados nas fezes e, portanto, não são infectantes. Após a exposição ao ar, eles esporulam e, então passam a conter dois esporocistos e cada um contendo 4 esporozoítos (DUBEY, 1998).

Nos hospedeiros intermediários, após a ingestão de cistos ou oocistos, as paredes destes são rompidas por degradação enzimática e as formas infectantes (bradizoítos, taquizoítos ou esporozoítos) são liberadas no lúmem intestinal, rapidamente invadem as células, formando um vacúolo citoplasmático, onde sofrerá sucessivas divisões por endodiogenia dentro da célula, tornando-se taquizoítos. A seguir, a disseminação dos taquizoítos do *T. gondii* ocorre pelo rompimento das células infectadas, seguindo de invasão de células vizinhas. Eles invadem o tecido linfóide associado ao intestino e se disseminam, pelos sistemas linfáticos e sanguíneos, além de macrófagos infectados para praticamente

todos os órgãos (LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997; GALISTEO, 2004; DEUMETRE, 2005).

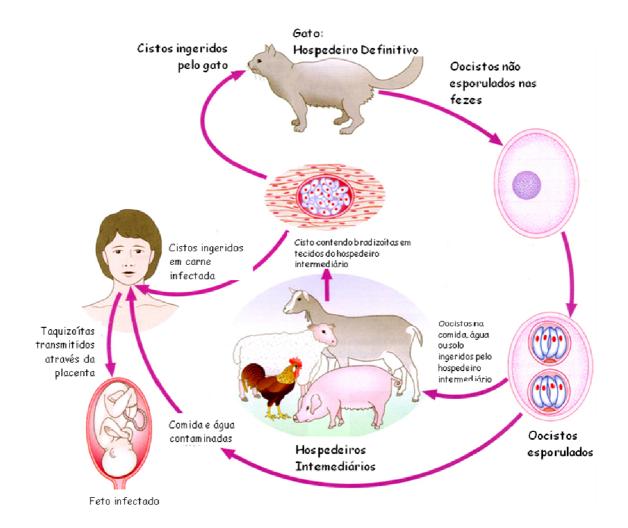


Figura 4 – Ciclo Biológico do Toxoplasma gondii

Fonte: <a href="http://lineu.icb.usp.br/~farmacia/ppt/Toxoplasmose">http://lineu.icb.usp.br/~farmacia/ppt/Toxoplasmose</a> 2009.ppt.

## 3.3. FONTES DE INFECÇÃO E VIAS DE TRANSMISSÃO

A infecção por *T. gondii* pode ser transmitida, principalmente, através de alimentos (MEIRELE S, 2001; GALISTEO, 2004), por felídeos (DUBEY 1998; MARTINS; VIANA,

1998), via placentária (CARMO et al., 2005) e outras vias, embora raras, como transfusão de sangue, transplantes de órgãos e acidentes de laboratório (DUBEY, 1986, AMATO NETO et al., 1995) e amamentação (AMATO NETO et al, 1995).

Os gatos e outros felídeos se infectam principalmente pela ingestão dos microrganismos encistados presentes nos tecidos dos hospedeiros intermediários, tais como os roedores (MARTINS; VIANA, 1998; SILVA; LANGONI, 2000). Os felídeos são a principal fonte de infecção para os outros animais e para o homem (CORRÊA; CORRÊA, 1992), embora alguns autores considerem estes animais a forma menos provável de transmissão (LAPPIN, 1994; MARTINS; VIANA, 1998).

Em relação aos animais, principalmente os herbívos, a ingestão de oocistos constitui um dos meios naturais de contaminação. A infecção dos rebanhos pode está associada à ingestão de pastagens, ração, silagem e água contaminadas por oocistos e a estabulação de animais junto a locais contaminados com dejetos de felídeos pode aumentar o risco da infecção (CHIARI, 1981; MEIRELES, 2001).

Em aves a fonte de infecção está relacionada com o tipo de dieta e sua possível contaminação (KIRKIPATRIC; COLVIN; DUBEY, 1990). A contaminação das aves com oocistos esporulados ocorre principalmente pelo contato direto com terra ou através da ingestão de água e alimentos contaminados (MARTINS; VIANA, 1998; SILVA; LANGONI, 2000; HIRAMOTO et al., 2002). A transmissão através de verme de solo, evidencia a possibilidade desses atuarem como hospedeiros transportadores para infectar galinhas e outras aves (RUIZ; FRENKEL, 1980).

Nos animais parasitados, após um período de doença aguda o *T. gondii* desenvolve a forma cística nos músculos, cérebro e outros órgãos, forma evolutiva do parasito que constitui a principal fonte de infecção para o homem (VIDOTTO, 1992; NAVARRO et al., 1992; DUBEY; THULLIEZ, 1993).

#### 3.4. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A distribuição geográfica da toxoplasmose é mundial, com elevada incidência nos países tropicais, devido à influência favorável do clima quente e úmido sobre os oocistos (MEIRELES, 2001; FUNASA, 2002).

Existem vários fatores que demonstram ter impacto na epidemiologia da infecção por *T. gondii*, como o tipo de manejo e produção dos animais, critérios de higiene em criatórios de animais, abatedouros, processamento e tecnologia de alimentos; densidade populacional de gatos ou felinos selvagens; condições ambientais que influenciam na esporulação dos oocistos (temperatura, umidade e ventilação), assim como diferentes hábitos alimentares de animais e de pessoas (MEIRELES, 2001; AFSSA, 2005).

O gato e os felinos selvagens são responsáveis pela disseminação do *T. gondi* no meio ambiente, pelo consumo de presas infectadas de oocistos esporulados, eles vão eliminar durante alguns dias grande quantidade de oocistos, no material fecal. A soroprevalência da toxoplasmose nos felinos varia de acordo com seu modo de vida, sua alimentação e idade. Estima-se que cerca e 1% de gatos são excretores de oocistos num determinado momento de sua vida (AFSSA, 2005)

A presença de gatos e histórico de ocorrência de abortos em propriedades agropecuárias, são fatores reconhecidos correlacionados com a toxoplasmose. A soropositividade de rebanho também pode estar relacionada com manejo intensivo, devido a maior probabilidade dos animais estarem expostos as fezes de gatos, quando presentes na propriedade e história de mortalidade neonatal (MEIRELES, 2001).

No homem a toxoplasmose apresenta alta infecciosidade e baixa patogenicidade, representando maior risco a mulheres grávidas e a pacientes imunocomprometidos (AMATO NETO et al., 1995).

A toxoplasmose infecta milhões de pessoas no mundo inteiro, sendo que a prevalência da infecção humana na maioria dos países está entre 40 e 50% (AFSSA, 2005; KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005). Na França é relatada uma das mais altas prevalência do mundo, cerca de 85%, devido o consumo de carne crua, ou mal cozida, enquanto nos países da América Central a alta prevalência está relacionada a presença de grande quantidade de gatos abandonados (AFSSA, 2005). No Brasil esta taxa aumenta até 80%, dependendo da área o *T. gondii* (AFSSA, 2005; KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005).

Nos animais a prevalência da toxoplasmose é variada de acordo com a espécie afetada. Diferentes investigações realizadas no mundo inteiro demonstraram a enfermidade toxoplásmica nos animais domésticos, principalmente naqueles de interesse econômico. Entre os animais de consumo, suínos, ovinos e caprinos são os mais comumente infectados com o *Toxoplasma gondii* que os bovinos, aves, equinos e bubalinos, comparativamente (DUBEY; THUILLEZ, 1993; MEIRELES et al., 2003; AFSSA, 2005).

A prevalência da toxoplasmose nos suínos é alta (VENTURINI et al., 2004; DOS SANTOS et al., 2005; PEREIRA, 2005; SOUZA et al., 2006), o mesmo acontece com os ovinos (BRAGA FILHO, 2004; SAWADOGO et al, 2005; DUMÈTRE, 2006) e caprinos (MACIEL, 2004; JITTAPALAPONG et al., 2005).

Várias aves silvestres e domésticas são susceptíveis a infecção pelo *T. gondii* (DUBEY, 2002) e a resistência à infecção parece está relacionada à idade dos animais, sendo os jovens mais susceptíveis (AMATO NETO et al., 1995).

#### 3.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial é de grande importância, uma vez que a infecção humana e nos animais domésticos e silvestres podem assumir quadros clínicos facilmente confundidos com uma gama enorme de outras enfermidades, dificultando a tomada de medidas específicas de tratamento e controle (VIDOTTO, 1992).

A infecção pelo *T. gondii* pode ser diagnosticada indiretamente através de métodos sorológicos e diretamente por exames parasitológicos, PCR, hibridação, isolamento e anatomopatologia (MONTOYA; LIESENFELD, 2004). No entanto, o diagnóstico definitivo de *T. gondii* é ainda hoje baseado na sorologia (KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005).

Métodos tradicionais de detecção direta do parasito são dificilmente realizáveis nessa doença, devido à ampla disseminação do seu agente causal, seu tropismo por várias células do organismo humano, gerando negatividade repetida na pesquisa direta do toxoplasma (WONG; REMINGTON, 1993; AMENDOEIRA et al., 1999). Devido, ser um parasito intracelular obrigatório, a cultura *in vitro* é complicada de ser mantida, tem custo elevado e necessita de longo tempo para fornecer resultado, muitas vezes só sendo efetiva em menos de 50% dos casos. O isolamento do parasito pode ser feito com a inoculação em camundongos que é mais sensível, porém requer de três a seis semanas e manutenção de animais em biotérios (AMATO NETO et al., 1995; KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005).

Outra técnica utilizada é a PCR, que detecta o DNA pela amplificação genética enzimática. A limitação desta técnica é que em si, ela não discrimina se o material amplificado provém de parasito viáveis ou de seus fragmentos (AFSSA, 2005). Ela é muito

utilizada no diagnóstico pré-natal humano de toxoplasmose congênita (MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

#### 3.5.1. Diagnóstico Sorológico

Inúmeros testes sorológicos têm sido propostos para detectar a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. O sorodiagnóstico é utilizado em materiais de animais (KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005), bem como nos exames de rotina de mulheres grávidas para prevenção de toxoplasmose congênita.

O primeiro teste disponível para detectar anticorpos específicos anti-*T. gondii* foi a reação de Sabin-Feldman. Décadas depois da sua descrição, ainda é considerado um teste de referência com taxas altas de sensibilidade e especificidade. Entretanto, a sua utilização tem sido restrita pelo uso obrigatório do parasito vivo, o que traz graves problemas de biossegurança (AFSSA, 2005).

Outras técnicas têm sido utilizadas para detectar o *T. gondii* no sangue de pacientes, como a Imunofluorescência, Hemaglutinação e Elisa (MONTOYA; LIESENFELD, 2004). Entretanto, têm sido observadas certas limitações desses métodos, uma vez que podem ocorrer falhas ao detectar IgG e IgM durante a fase ativa da infecção devendo ser sempre associadas a sinais cínicos (FRENKEL, 1991; LAINSON; LEÃO; CRESCENTE, 1997).

As técnicas sorológicas utilizadas nos animais são idênticas as do homem, porém algumas possuem limitações. A Hemaglutinação Indireta e a Aglutinação em látex foram abandonadas devido problemas de sensibilidade, títulos falsos (reação cruzada com outros coccídios). A Imunofluorencência Indireta foi empregada em animais (AFSSA, 2005), observando-se diferenças de sensibilidade, sendo limitada devido a necessidade de utilizar conjugado específico da espécie (AFSSA, 2005). O ELISA foi proposto para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos nos bovinos, ovinos e eqüinos (WYSS et al., 2000), entretanto é limitada devido seu custo

O Teste de Aglutinação Modificada (MAT) foi inicialmente proposto para o sorodiagnóstico da toxoplasmose humana por Desmonts (1980 apud AFSSA, 2005). Este teste apresenta várias vantagens em relações aos outros: boa sensibilidade e especificidade,

simplicidade para a realização e possibilidade de ser realizada em várias espécies animais (DUBEY, 1996; DUBEY, 2002).

Em aves o MAT tem sido muito utilizado em trabalhos experimentais com *T. gondii* e nas pesquisas sorológicas por autores como Dubey et al (2007); Dubey et al (2006a); Dubey et al (2006b) Dubey et al (2006c); Dubey et al (2006d); Deyab e Hassanein (2005); Dubey (2005); Dubey et al (2005a);); Dubey et al (2005b); Dubey et al (2005c); Dubey et al (2005d); Dubey et al (2005f); Dubey et al (2004).

#### 3.6. Toxopasma gondii EM AVES

Dentre as aves domésticas a galinha, pato e peru podem ser acometidos pela toxoplasmose, demonstrando que esta doença é capaz de infectar representantes de grupos bem distintos Além das aves domésticas, as silvestres também são susceptíveis a infecção pelo *T. gondii* ( AMATO NETO et al, 1995; DUBEY, 2002).

Nos casuares e emas infectadas com *T. gondii* têm sido observadas anorexia, diarréia e dispnéia. Em avestruzes, verificaram-se sinais oculares e de comprometimento do sistema nervoso central (PATTON, 1993). Mainás e papagaios apresentaram inapetência, depressão e tremores ocasionais (DHILLON et al, 1982).

A infecção nas aves ocorre principalmente através da ingestão de oocistos presentes nos alimentos e solos contaminados. Após um período de doença aguda o *T. gondii* desenvolve a forma cística nos músculos, cérebro e outros órgãos (GERMANO; GERMANO, 2001; MEIRELES, 2001).

Galinhas infectadas por *T. gondii* em geral não demonstraram sinais clínicos de doença. Poedeiras inoculadas diretamente no papo com cinco mil oocistos não demonstraram nenhum sinal clínico, a despeito de cistos teciduais estarem presentes no cérebro e coração seis semanas após a infecção, mas soroconverteram após a segunda semana de infecção. Também foi verificado em pombos inoculados via papo com 50 oocistos, que não adoeceram, mas soroconverteram e cistos teciduais estavam presentes em vários tecidos aos 45 dias após a infecção (SILVA; LANGONI, 2000). Uma elevada resposta sorológica ao *T. gondii* foi observada em aves domésticas oriundas de propriedades rurais no norte do Paraná (GARCIA et al., 2000).

Kaneto et al. (1997), Medeiros e Lopes (1996) e Dubey, Ruff e Camargo (1993), estudaram o *T. gondii*, através de inoculações experimentais em galinhas e confirmaram que esses animais podem desenvolver anticorpos bem como exibir cistos teciduais em cérebro, coração e musculatura das aves.

Em vários países do mundo foram realizados experimentos com galinhas de criação e vida livre nos quais foi utilizado como método de diagnóstico o Teste de Aglutinação Modificado, nos quais foram observadas variáveis taxas de prevalência. Desse modo, no Peru, Dubey et al. (2004) foi observada positividade de 26%; no México, Dubey et al. (2004), 6,2%; na Colômbia, Dubey et al. (2005a), 44,4%; na Áustria, Dubey et al. (2005b), 36,3%; em Sri Lanka, Dubey et al. (2005c), 28%; na Argentina, Dubey et al. (2005d), 48%; na Venezuela, Dubey et al. (2005e), 32%; no Egito, Deyab e Hassanein (2005), 18,7%; na África, Dubey et al. (2006f), 50%; na. Nicarágua, Dubey et al. (2006a), 85,7%; no Chile, Dubey et al. (2006b), 55,39%; na Costa Rica, Dubey et al. (2006c), 40,1%; em Portugal, Dubey et al. (2006d), 36%.

No Brasil, Garcia et al. (2000), submeteram 155 amostras de soro de galinha ao Teste de Imunofluorescência Indireta e obtiveram positividade em 16 (10,3 %) amostras. Da Silva (1999), estudaram 198 soros de galinhas e observaram positividade em 129 de positividade, através do MAT e o isolamento do parasito em 61 (70,9%), a partir da inoculação em camundongos de material de 86 amostras de cérebro e coração. No estado do Amazonas, Dubey et al. (2006d), submeteram 50 galinhas de criação livre ao MAT e conseguiram soropositividade em 33(66%) amostras.

Marobin et al. (2004) pesquisaram *T. gondii* em 74 galinhas de criação livre em 10 criatórios diferentes localizados no Rio Grande do Sul e obtiveram 8,10% de soros reagentes ao *T. gondii* pela Hemaglutinação Indireta (HAI).

Soros de aves domésticas de criação livre foram submetidos ao teste de Aglutinação Modificada, sendo confirmado através da inoculação experimental, a partir do cérebro e coração das aves soropositivos (DUBEY et al., 2002; DUBEY et al., 2003 a; DUBEY et al., 2003 b; DUBEY et al., 2003 c). Dubey et al.(2002), analisaram 82 soros, provenientes de São Paulo, Brasil, com 32 positivos; Dubey et al.(2003 a), realizaram a sorologia em 29 soros de aves provenientes da Argentina e determinaram positividade em 19; Dubey et al. (2003 b), estudaram soros de 118 aves, oriundas dos EUA e encontraram 20 positivos; e Dubey et al. (2003 c), pesquisaram 40 soros, oriundas do Paraná, Brasil e encontraram 16 positivos.

Brandão et al. (2006) isolaram o *T. gondii* em musculatura de galinhas de criação livre (53,6%), no estado de Minas Gerais.

Pesquisas realizadas por Andrzejewska, Linder e Bortoliero (2004), na Polônia, envolvendo 205 cegonhas jovens e 44 adultas, demonstraram pela Técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI) prevalência de 5,8% e 13,6%, respectivamente.

Experimentos realizados em Taiwan com 665 amostras de soro de pombos, submetidos ao Teste de Aglutinação em Látex demonstraram prevalência de 4,7% (TSAI et al., 2006). No Brasil, Marciano (2004) pesquisou *T. gondii* em 126 pombos urbanos pela RIFI e constatou a baixa positividade de 0,8%.

Amostras de soros de 252 aves da família Cracidae procedentes do município de Paulista (PE) demonstraram a freqüência de 84,92% aves positivas, mediante o emprego do Teste de Hemaglutinação Passiva (LEITE, 2000).

#### 3.7. ASPECTOS ZOONÓTICOS (SAÚDE PÚBLICA)

O homem adquire a infecção toxoplásmica pela ingestão de oocistos esporulados em água e verduras, e cistos teciduais em carne crua ou mal cozida, como congenitamente pela via transplacentária, e os riscos de infecção estão relacionados às condições de vida e higiene, contato com felídeos e hábitos culturais (DUBEY, 1996; MEIRELES, 2001).

No homem, a transmissão pela carne pode se dá não apenas pelo consumo, mas de forma indireta, através da manipulação da carne crua, contato com superfícies de preparação de alimentos, facas e outros utensílios (MARTINS; VIANA, 1998; DIAS et al., 2005). Por isso alguns manipuladores de carne crua, de forma repetida, como certos profissionais de frigoríficos, matadouros e açougues apresentam, em alguns casos, uma prevalência mais elevada que a população do mesmo lugar (DAGUER et al., 2004; DIAS et al., 2005).

A carne suína é considerada por vários pesquisadores como a principal fonte de infecção para o homem (MENDONÇA, 2003; DIAS et al., 2005; PEREIRA, 2005). Em muitos países, além da carne fresca a lingüiça de porco são apontadas como as principais fontes de toxoplasmose humana (DIAS et al., 2005), seguida pelas carnes de cabra, ovelha e galinhas (DUBEY, 1986; ECKERT, 1996; MEIRELES, 2001).

A água também pode ser uma via de transmissão da toxoplasmose humana, atuando como uma disseminadora de oocistos, para a população que venha a utilizá-la. A contaminação de reservatórios de água por fezes de felinos infectados e eliminando oocistos de *T. gondii* pode levar a surtos ou epidemias (FUNASA, 2002).

Vários autores mencionam em suas pesquisas relatos de surtos de toxoplasmose humana pelo consumo de carne mal cozida (DIAS; FREIRE, 2005; GARCIA et al., 1999; GAUSS, 2005; DOS SANTOS et al.; 2005; SAWADOGO et al., 2005), verduras e água contaminadas (AMATO NETO et al., 1995). Também há casos de toxoplasmose humana relacionados ao consumo de leite e seus derivados, principalmente de cabras (DUBEY, 1994; MARTINS; VIANA, 1998; SILVA; LANGONI, 2000).

No Brasil o primeiro relato de surto de toxoplasmose na literatura médica foi feito por Magaldi et al (1967), onde 81 pessoas que viviam em um seminário, em Bragança Paulista, 30 apresentaram a toxoplasmose. Bonametti et al. (1997) relataram a ocorrência de um surto de toxoplasmose em uma festa árabe realizada na cidade de Bandeirante, São Paulo, dos quais 17 pessoas se contaminaram através do consumo de quibe cru feito de carne ovina. Outro surto importante ocorreu no município de Santa Isabel do Ivaí, Paraná, onde 600 pessoas procuraram o serviço médico com surto característico de toxoplasmose, desses 176 casos encontraram-se 14 com alteração sugestiva de toxoplasmose ocular. Este surto ocorreu devido à contaminação de um reservatório de água da cidade por ooccistos de fezes de gatos jovens que habitavam o local, sendo que um dos filhotes apresentou sorologia positiva (FUNASA, 2002; DIAS; FREIRE, 2005).

#### 3.8. MEDIDAS DE CONTROLE

É importante controlar a eliminação de oocistos por gatos domésticos, para reduzir a transmissão da infecção para os seres humanos e animais (FRENKEL, 1991). Meireles (2001) recomenda não apanhar gatos vadios sem antes levá-los a um médico veterinário para realização de exames e receber todas as orientações através desse profissional quanto aos cuidados com a alimentação, vacina e higiene. Esses animais devem ser controlados diminuindo assim, a sua população e, consequentemente, a eliminação de oocistos para o meio ambiente.

Mantê-los no interior das residências, e evitar o contato com o meio externo, pois, segundo Frenkel (1991) os felinos que se alimentam dentro de casa têm pouca probabilidade de se infectarem. Não oferecer carne crua ou mal cozida. As caixas de areia desses animais devem ser limpas diariamente, de preferência não por gestantes nem por aidéticos, ou que no mínimo se use luvas ao fazê-lo. O destino dessas fezes pode ser a incineração, atirá-los no

vaso sanitário ou muito bem enterrados (FRENKEL, 1991; DUBEY, 1994; MEIRELES, 2001).

A infecção também é prevenida através do congelamento da carne e cozimento em temperatura superior a 67°C (MEIRELES, 2001; GALISTEO, 2004). Para Amato-Neto e Marchi (1999) a cocção deve ser feita por pelo menos 20 minutos, por 60°C com garantia de que o calor penetre igualmente no alimento. O congelamento da carne deverá ser feita a temperatura de -15°C por 3 dias e por mais 2 dias a -20°C, segundo Okolo (1985). De acordo com Silva e Langoni (2000) e Meireles (2001) o congelamento realizado por 18 a 24 horas, seguindo de descongelamento, poderá ser considerado meio eficaz de destruição dos cistos.

Outros métodos de destruição dos cistos de *T. gondii* na carne são mencionados na literatura, entre eles, a defumação, salga, cozimento, radiação gama e outros, podendo tornar possível o controle do parasito nos produtos de origem animal (JACOB; REMINGTON; MELO, 1960; DUBEY, 1986). Estudos mostram que a utilização do sal, na preparação de lingüiça suína mostrou-se eficaz com um tratamento de exposição de 48 horas (NAVARRO et al., 1992; SILVA; LANGONI, 2000; MEIRELES, 2001). De acordo com Dubey (1996), os cistos são também destruídos pela exposição a 0,5 Kg Gy de radiação gama.

A higienização é um método bastante eficaz na prevenção da toxoplasmose, pois sabão, água, álcool e desinfetantes químicos inativam os bradizoítos e cistos teciduais remanescentes. Desta forma, após a manipulação de carnes cruas, as mãos e utensílios que entraram em contato devem ser higienizados (SILVA; LANGONI, 2001; MEIRELES, 2001).

Fazer controle de moscas e baratas é também uma medida de prevenção, pois eles podem ser disseminadores mecânicos do *T. gondii* (PIZZI, 1997).

Portadores da SIDA e mulheres grávidas devem ser orientados de como evitar a aquisição da infecção. Também necessitam fazer exames regulares para, em caso de adquirir o parasito, realizar logo o tratamento (PIZZI, 1997).

Fazer notificação dos surtos aos órgãos competentes, com objetivo de fazer a investigação das fontes de infecção e desta forma aplicar medidas para o controle da doença. Em outros países programas de controle estão sendo aplicadas para diminuir a incidência da doença na população, principalmente na França, onde a prevalência é alta (AFSSA, 2005).

Medidas preventivas devem ser aplicadas aos animais domésticos para evitar transtornos reprodutivos, queda da produção e aparecimento dos sintomas, como medidas de higiene (MARTINS; VIANA, 1998; SILVA; LANGONI, 2000). Recomenda-se também a vacinação dos animais, com objetivo de diminuir danos fetais, reduzir o número de cistos do *T. gondii* e também prevenir a formação de oocistos em felídeos (DUBEY, 1994).

Nos criatórios de aves deve-se fazer a higienização de todo ambiente, aplicar rodenticidas e armadilhas para prevenir a caça dos roedores pelos gatos, evitar a entrada destes no local onde estejam as aves, e principalmente evitar que estes tenham acesso a água e rações (SILVA; LANGONI, 2000).

#### 4. MATERIAL

Amostras de soros de frangos de corte, num total de 300 amostras, coletadas em dois abatedouros de aves sob inspeção oficial, localizados no município de Santa Izabel e Benevides, região nordeste do estado do Pará e em abatedouros clandestinos localizados na região metropolitana de Belém-Pa, foram empregadas na pesquisa de anticorpos antiToxoplasma gondii

Os frangos de corte eram de ambos os sexos, com peso variando entre 1,9 Kg e 2,3 Kg e idade de 40 a 51 dias e procedentes de criatórios localizados nos municípios de Castanhal, Santo Antonio do Tauá, Santa Izabel e Benevides.

As amostras de soros foram obtidas na etapa de sangria nos dois tipos de estabelecimentos de abate, armazenadas em tubos de ensaio que foram mantidos à temperatura ambiente até a retração do coágulo e centrifugados a 2000 rpm por dez minutos para separação e obtenção dos soros, estes armazenados em tubos de Eppendorf a -20 °C, até o momento da análise sorológica.

#### 5. MÉTODO

#### 5. 1.TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA (MAT)

A análise sorológica foi realizada no Laboratório de Doenças Parasitárias, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, através do teste de aglutinação modificado (MAT), para a detecção de anticorpos da classe Ig G, conforme técnica descrita por Dubey e Desmonts (1987). Foram realizados os testes qualitativo e quantitativo.

#### 5.1.1. Preparo das Amostras de Soro

Diluir os soros a 1:5 a 1:50 em solução salina tamponada, pH 7,2 (900 mL de água, 42,5g de NaCl, 1,54g de NaH2PO4); filtrar em membrana de 45 µm de porosidade. Foram realizadas diluições decimais seriadas.

#### 5.1.2.Preparo do Antígeno

O antígeno para o Teste de Aglutinação Modificada foi fornecido pelo Dr. J. P. Dubey do Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USA), em Beltsville, Maryland.

A diluição foi feita em 90μL de antígeno estoque (taquizoitos inteiros fixados em formalina) em 2,5 mL de solução tamponada, pH 8,95 (7,01g de NaCl; 3,09g de H3BO3; 2,0g de NaN3; albumina sérica bovina para uma solução a 0,4%), 35μL de mercaptoetanol 0,2 M e 50μL de azul de evans a 0,2%).

#### 5.1.3. Preparo da Placa de MAT

Distribuir 25µL de suspensão de antígeno em cada um dos poços da microplaca de 96 poços com fundo em "U". A seguir acrescentar igual volume de amostra de soro diluído. Homogenizar adequadamente, selar a placa com adesivo plástico e incubar durante uma noite em estufa a 37 °C. Para todas as amostras de soros foram incluídos soros padrões positivo e negativo, previamente conhecidos.

#### 5.1.4.Leitura da Reação

Na reação positiva antígeno-anticorpo forma-se uma malha ou véu de contorno pouco definido no fundo do poço; na reação negativa o antígeno deposita-se no fundo do poço, formando-se um botão de contorno bem definido.

#### 6. RESULTADOS

Na tabela 1 está a freqüência de amostras de soro de aves de corte coletadas de acordo com o local de abate verificando semelhança entre elas.

**Tabela 1-** Freqüência de amostras de soro de aves de corte coletadas de acordo com o local de abate

Empresa	Freqüência	Percentagem	Freqüência Cumulativa	Percentagem Cumulativa
Americano	100	33,33	100	33,33
Sólon	100	33,33	200	66,67
Clandestina	100	33,33	300	100,00

Na tabela 2 consta a frequência de amostras de soro coletadas segundo o município de procedência das aves.

**Tabela 2-** Frequência de amostras de soro de aves de corte coletadas de acordo com o município de procedência

Empresa	Freqüência	Percentagem Cumulativa	Freqüência Cumulativa	Percentagem
Benevides	132	44,00	132	44,00
Castanhal	16	5,33	148	49,33
Santa Isabel	128	42,67	276	92,00
Santo Antônic deTauá	24	8,00	300	100,00

Os resultados do MAT para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de frango de corte estão resumidos na Tabela 3. Apenas uma (1/300, 0,33%) amostra demonstrou a ocorrência de anticorpos específicos para *T. gondii* nas aves abatidas, com título final 1:5.

Conforme os dados da Tabela 3, a amostra de soro positiva foi detectada entre os soros procedentes de abate clandestino.

**Tabela 3.** Resultado do Teste de Aglutinação Modificada para a detecção de anticorpos anti-*T.gondii* em soros de frangos de corte, consumidos no município de Belém.

Teste de Aglutinação Modificada

	Positivo	Negativo	Total
AMERICANO	0	100	100
SOLON	0	100	100
CLANDESTINO	1	99	100
TOTAL	1	299	300

#### 7. DISCUSSÃO

Baixas taxas de soroprevalência de *T. gondii* em frangos de corte já foram registradas na literatura. Araújo, Silva e Chaplin (1989) e Literák e Helihejlicek (1993) determinaram soroprevalências de 2,80% e 5,10%, respectivamente, na prova de Hemaglutinação Indireta em frangos abatidos em matadouro de Porto Alegre e na prova de Sabin-Feldman em galinhas criadas em escala industrial, na República Tcheca. Meireles (2001), por outro lado, determinou ausência de anticorpos anti-*T. gondii* em frango de corte, na prova de Imunofluorescência Indireta.

Do mesmo modo, baixa taxa de 4,70% de soroprevalência de *T. gondii* foi determinada pela técnica de aglutinação em látex em amostras de soros procedentes de pombos em Taiwan, 4,70% (TSAI et al., 2006). Lima (2003) e Marciano (2004) no Brasil, determinaram pela prova de imunofluorescência indireta em pombos soroprevalência comparativamente semelhante à taxa observada nesta pesquisa, 0,00% e 0,80%, respectivamente.

Os resultados da presente pesquisa contrastaram, no entanto, com aqueles determinados em amostras de soros de galinhas procedentes de criação livre. Níveis significantes de soroprevalência de 10,30% e 65,10% foram encontrados por Garcia et al (2000) e Silva e Langoni (2000), respectivamente, através da imunofluorescência indireta e MAT. De modo semelhante, elevadas taxas de soroprevalência foram determinadas através do MAT em amostras de soros de aves de outras espécies como perus e patos no Egito, 59,50% e 50,00%, respectivamente, (EL MASSRY et al., 2000).

Andrzejenska, Linder e Bortoliero (2004) através da imunofluorescência indireta e Marobin et al (2004) com o emprego da hemaglutinação indireta, respectivamente, em cegonhas no ambiente natural e cativeiro e em emas, observaram também soroprevalências superiores às do presente estudo, 5,80% e 13,60% e 8,10%, dados que confirmaram a ampla distribuição de *T. gondii* no ambiente.

Elevadas soroprevalências de *T. gondii* em frangos de corte procedentes de criação livre, variáveis de 18,70% a 85,70% e, portanto, superiores aos resultados encontrados na presente pesquisa, foram obtidos através do MAT em diferentes partes do mundo como América do Sul e América Central (DUBEY et al., 2004; DUBEY et al., 2005a; DUBEY et al., 2005d; DUBEY, et al., 2005e; DUBEY et al., 2006a, DUBEY, 2006c), Europa (DUBEY

et al., 2005b, 2006d), África (DUBEY et al., 2005f; DEYAB; HASSANEIN, 2005) e Ásia (DUBEY et al., 2005e).

No Brasil, elevadas soroprevalências de *T. gondi* foram observadas, do mesmo modo através do MAT, em amostras procedentes de galinhas de criação livre nos estados de São Paulo, Amazonas, Pará e Rio Grande do Sul, respectivamente, 39,00%, 66,00% e 46,00% (DUBEY et al., 2002; DUBEY et al., 2006d,; DUBEY et al., 2007). Soroprevalência de 40,00% foi observada em aves no estado do Paraná (DUBEY et al., 2003).

Os estudos de soroprevalência de *T. gondii* em frangos de corte é de elevada importância em função do risco sanitário para o homem; frequentemente, a carne de frango não tem sido considerada como fonte de infecção potencial (COOK et al., 2000), ainda que alguns estudos tenham comprovado a presença de cistos de *T. gondii* nas musculaturas esquelética e cardíaca de animais infectados experimentalmente (KANETO et al., 1997). Essas assertivas confirmaram os estudos de Medeiros e Lopes (1996) que após avaliarem 11 galinhas, isolaram o parasito em cérebro e coração de uma delas. Da mesma forma, Dubey, Ruff e Camargo (1993) estudando o *T. gondii* através de inoculação experimental em galinhas confirmaram que esses animais podem desenvolver anticorpos e exibirem cistos teciduais no cérebro, coração e musculatura das aves.

A análise dos resultados da presente pesquisa e a comparação dos mesmos com aqueles de outros autores permitem a afirmação de prováveis hipóteses como as seguintes:

- 1. O sistema de criação de frangos de corte parece interferir com a sensibilização das aves pelo *T. gondii* e, consequentemente, com a presença de anticorpos desse protozoário nas aves. Na criação em escala industrial, o manejo intensivo leva ao abate em aproximadamente 45 dias, enquanto que no sistema de criação livre as aves permanecem num mesmo ecossistema durante meses e até anos em contato com potenciais fontes de infecção (BIANCIFIORI et al., 1986; ARAUJO; SILVA; CHAPLIN, 1989).
- 2. As técnicas sorológicas empregadas no diagnóstico apresentam diferentes níveis de especificidade e sensibilidade. Os achados de Dubey, Ruff e Camargo (1993) reforçaram esta possibilidade quando, comparadas as provas de Aglutinação em Látex, Aglutinação Indireta, Sabin-Feldman, Aglutinação Modificada e Elisa, foi verificado que apenas as provas de Aglutinação Modificada e Elisa foram capazes de detectar o *T. gondii* em galinhas.
- 3. Nas pesquisas realizadas com frangos de corte de criação livre, em diversas partes do mundo, inclusive o Brasil, o MAT demonstrou ser um teste amplamente utilizado, devido a sua sensibilidade e especificidade (DUBEY, 2002).

4. Com o emprego do MAT foi possível detectar, na presente pesquisa, pelo menos uma amostra positiva entre os soros estudados.

## 8. CONCLUSÕES

- 1. Anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados em amostra de soro de frangos de corte procedentes de criatórios paraenses.
- 2.Baixa soroprevalência foi observada em frango de corte abatido clandestinamente e soroprevalência negativa nos soros de frangos de corte abatidos em estabelecimento industrial.
- 3.O teste de aglutinação modificado mostrou-se eficiente na detecção de pelo menos uma amostra dos soros examinados.

# 9. RECOMENDAÇÃO

Recomenda-se a pesquisa sorológica de *T. gondii* no nível de abate e de consumo como medida de prevenção do risco potencial de infecção por *T. gondii* através de ingestão de carne de frango.

### REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales.** 2 ed. Publication Científica. Washington: Organización Panamericana de la Salud (OPS), 1986. p.646-58.

AFSSA. Agence Française de Securité Sanitaire des Aliments. 2005. Disponible em <a href="htt://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/35217-3528.pdf">htt://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/35217-3528.pdf</a>>. Acesso em 13/02/2007.

AMATO-NETO, V. et al. **Toxoplasmose.** 4.ed. São Paulo : Sarvier, 1995, 154p.

AMATO-NETO, V; MARCHI, C. R. Toxoplasmose. In: CINERMAN, C.; CINERMAN, S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos.** São Paulo: Atheneu, 1999, p. 159-177.

AMENDOEIRA, M. R. R. et al. Isolamento de Toxoplasma gondii em solo de horta. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.25, n.1, p.31-36, 1999.

ANDRZEJENSKA, I. LINDER, F.; BORTOLIERO, A. L. T. gondii antibodies in the stork Ciconia ciconia. **Veterinary Research**, v.117, n.7-8, p.274-275, 2004.

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

ARAÚJO, W. N.; DA SILVA, A. V.; LANGONI, H. Toxoplasmose: uma zoonose - realidades e riscos. **Revista Cães e Gatos,** n. 79, p.22-27, 1998.

BIANCIFIORI, F. et al. Avian Toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon. **Parasitology,** v.9, p.337-346, 1986.

BONAMETTI, A. M. et al. Surto de Toxoplasmose aguda através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 1, 1997.

BRANDÃO, G. P. et al. Characterization of *T. gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. **Parasite**, v.13, n.2, p.143-149, 2006.

BRAGA FILHO, E. **Diagnóstico Sorológico de** *Toxoplasma gondii* em ovinos criados em dois municípios do Pará e considerações relativas à saúde animal e humana. 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal do Pará, 2004.

CARMO, E.L.et al. Research on antibodies anti-T.gondii in intraocular fluids from patients with ocular toxoplasmosis, in the city of Belém, Pará state. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.38, n.1, p.77-79, 2005.

CHIARI, C. A. **Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina**. 1981.131f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de Minas Gerais, 1981

COOK, A. J. et al. Sources of Toxoplasma infection in pregnant women: a European multicentre case-controle study. **American Journal of Public Health**, v.321, p.142-147, 2000.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos.** 2. ed. Rio de Janeiro: Médica e Científica Ltda, 1992. p.756-766.

DAGUER, H. et al. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de Pato Branco, Paraná, Brasil.**Ciência Rural**, v. 34, p.1133-1137, 2004.

DA SILVA, A V. Toxoplasmose ovina: Avaliação de métodos diretos na detecção do seu agente em cordeiros sorologicamente positivos, abatidos para consumo humano. 1999. 164f. Dissertação(Mestrado em Medicina Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP, 1999.

DEMONTS, G.; REMINGTON, J. S. Direct Agglutination Test for diagnoses of *Toxoplasma gondii* infection: method for increasing sensivity and specificit. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.

DEYAB, A. K. E HASSANEIN, R. Zoonotic toxoplasmosis in chicken. **Journal Veterinary**, v.35, n.1, p.341-50, 2005.

DIAS, R. A. F. et al. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in londrina, Paraná, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.47, n.4, 2005.

DIAS, R. A. F.; FREIRE, R. L. Surtos detoxoplasmose em seres humanos e animais. **Semina:** Ciências Agrárias, v. 26,n. 2, p. 239-248, 2005.

DHILLON, A. S. et al. Pet bird medicine: Toxoplasmosis in mynahs-Case Report. **Avian Disease**, v. 26, p.445-449, 1982.

DOS SANTOS, A. et al. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.131, n.3-4, p.207-211, 2005.

DUMETRE, A. Contribuition à la détection de *Toxoplasma gondii*, dans l'environnement et dans des réservoirs animaux. 2005. 223f. Thèse (Doctorat de Parasitologie). Faculté de Médicine de Limoges, 2005.

DUBEY, J. P. Distribution of Toxoplasma gindii tissue cystis in comercial of pork. **Journal of American Veterinarian Medical Association**, v. 188, p. 1035-1037, 1986.

DUBEY, J. P.; DESMONTS, G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal,** v. 19, p. 337-339, 1987.

DUBEY, J. P.; RUFF, M. D.; CAMARGO, M. E. Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal Veterinary Research**, v. 54, n. 10, p. 1668-1672, 1993.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of catlle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal Veterinary Research,** v. 54, n. 2, p. 270-273, 1993.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal American of Veterinary Medicine Animal**, v.205, p.1593-1598, 1994.

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

DUBEY, J. P. Comparative infectivity of *Toxoplasma gondii* bradyzoites in rats and mince. **The Journal of Parasitology**, v. 84, n.6, p. 1279-1282, 1998.

DUBEY, J. P. et al. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens ( *Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. **International Journal Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2002.

DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in wild birds. **Veterinary Parasitology**, v.106, p.121-153, 2002.

DUBEY, J. P. et al. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 5, p. 1063-1064, 2003a.

DUBEY, J. P. et al. *Toxoplasma gondii* isotates from free-ranging chickens from the United States. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 5, p. 1060-1062, 2003b.

DUBEY, J. P. et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range ckickens from Parana, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 3, p. 229-234, 2003c.

DUBEY, J. P. et al. Tissue distribuition and molecular characterization of chicken isolates of Toxoplasma gondii from Peru. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 5, p. 1015-1018, 2004.

DUBEY, J. P.; PATTITUCCI, A.N.; SUNDAR, N. Characterization of *T. gondii* isolates in free-range chickens from Chile, South America. **Veterinary Parasitology**, v.140, n.1-2, p.76-82, 2006a.

DUBEY, J. P.; SU, C.; OLIVEIRA, J.; MORALES, J. A. Biologie and genetic characteristics of Toxoplasms gondii isolates in free-range chickens from Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v.139, n.1-3, p.29-36, 2006b.

DUBEY, J. P. et al. Characterization of *T. gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. **Journal of Parasitology**, v. 92, n.1, p.184-6, 2006c.

DUBEY, J. P. et al. Characterization of T. gondii isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 92, n.1, p.36-40, 2006d.

DUBEY, J. P. et al. Isolation and molecular characterization of T. gondii from chickens from Sri Lanka. **Journal of Parasitology**, v.91, n.6, p.1480-82, 2005a.

DUBEY, J. P. et al. Toxoplasma gondii infectins in chickens from Venezuela: isolation, tissue distribution, and molecular characterization. **Journal of Parasitology**, v.91, n.6, 1332-4, 2005b.

DUBEY, J. P. et al. Genetic and biologic characteristics of T. gondii isolates in free-range chickens from Colombia. **Veterinary Parasitology**, v.134, n.1-2, p.67-72, 2005c.

DUBEY, J. P et al. Genetic and biologic characteristics of T. gondii isolates in free-range chickens from Austria. **Veterinary Parasitology**, v.133, n.4, p.299-306, 2005d.

DUBEY, J. P. et al. Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of T. gondii from chickens in India. **Journal of Parasitology**, v.91, n.3, p.557-60, 2005e.

DUBEY, J. P.et al. First biologic and genetic characterization of T. gondii isolates from chicken from Africa. **Journal of Parasitology**, v.91, n.1, p.64-72, 2005f.

DUBEY, J. P. et al. Biologic and Genetic comparison of T. 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 population. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n.2, p.182-188, 2007.

ECKERT, J. Workshop Summary: food safety: meat and fish born zoonosas. **Veterinary Parasitology**, v. 61, p. 143-147, 1996.

EL-MASSRY, A. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibiodies en sera of turkeys, chickens and ducks from Egypt. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 627-628, 2000.

FREYRE, A. **Toxoplasmosis en las espécies domésticas y como zoonosis**. Montevidéo-Uruguai: Departamento de Publicaciones de la Universidad de La Republica. 1989. 332p. FRENKEL, J. K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8 ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1991, p. 734-749.

FUNASA. Surto de Toxoplasmose no município de Santa Isabel do Ivaí, Paraná.**Boletim Eletrônico Epidemiológico**, ano 2, n.03, p.1-9, 2002. Disponível em: <a href="http://portal/saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim\_eletronico\_03\_ano02.pdf">http://portal/saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim\_eletronico\_03\_ano02.pdf</a>. Acesso em: 17/10/2006.

GALISTEO, A. J. Toxoplasma gondii radiação ionizante: Estudo da imunidade intestinal em camundongos C57BI/6j experimentalmente vacinados com taquizoítos irradiados. 2004. Dissertação(Mestrado em Tecnologia Nuclear). Universidade de São Paulo, 2004.

GARCIA, J. S. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela tela de Amster, em pacientes da zona rural, atendido na unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 6, p. 671-676, 1999.

GARCIA, J. L. et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas ( *Gallus gallus* domesticus) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 123-127, 2000.

GAUSS, C. B. L. Seroprevalence of *Toxoplasms gondii* in wild pigs(*Sus scrofa*) from Spain. **Veterinary Parasitology**, v.131, p.151-156, 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. J. S. Higiene e Vigilância Sanitária de alimentos. São Paulo: Varela, 2001. 629p.

HIRAMOTO, R. M. et al. 200Gy sterilised Toxoplasma gondi tachyzoits maintain metabolic function and mammalian cell invasion. **Vacine**, v.20, n.16, p.2072-2081, 2002.

KANETO, C. N. et al. Experimental toxoplasmosis in broiler chickens. **Veterinary Parasitology**, v. 69, n. 3-4, p. 203-210, 1997.

KIRKPATRICK, C. F.; COLVIN, B. A.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* antibodies in common barin-owls(Tyto alba) and pigeons (*Columba livia*) in New Jersy. **Veterinary Parasitology**, v.36, n.1-2, p.177-180, 1990.

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

KUTIC, V.; WIKERHAUSER, T. A Survey of chickens for viable toxoplasms in Croatia. **Acta Veterinary Hungarian,** v. 48, n. 2, p. 183-185, 2000.

JACOBS, L; REMINGTON, J. S.; MELTON, M. L. A Survey of meat samples from swine, catlle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. **Journal of Parasitology**, v.4, p. 23-28, 1960.

JITTAPALAPONG, S et al. Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v.127, p17-22, 2005.

LAINSON, R.; LEÃO, R. N. Q.; CRESCENTE, J. A. B. Toxoplasmose. In: LEÃO, R. N. Q. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico**. Belém: Cejup, 1997. p. 671-683.

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

LARSON, C. D. Diagnóstico laboratorial da toxoplasmose – reação utilizada e interpretações clínicas. **Cães e Gatos**, p.5-11, 1989.

LEITE, A. S. Frequência de Aves da Família Cracidae Soro-Reagentes para Toxoplasma gondii no Criadouro Cultural e Científico Chaparral, Paulista-PE. 2000. 26f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000.

LITERÁK, I.; HEJLÍCEK, K. Incidence of Toxoplasma gondii in population of domestic birds in the Czech Republic. **Avian Pathology**, v.22, p.275-281, 1993.

LIMA, V.Y. **Pombos** (*Columba livia*) como prováveis transmissores de *Chlamydophila psittaci* e *Toxoplasma gondii*. 2003. 60f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia)-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2003.

MACIEL, K. P. Inquérito sorológico para detecção de anticorpos de T. gondii em caprinos(*Capra hircus*) criados nos municípios de Gravataí e Viana, região da Grande **Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil**. 2004. 66f. Dissertação(Mestre em Ciência Veterinária)-Universidade Federal do Rio Grande do sul, 2004.

MAGALDI, C et al. Surto de toxoplosmose em um seminário de Bragança Paulista (estado de São Paulo). Aspectos clínicos, sorológicos e epidemiológicos. **Revista de Saúde Pública**, v.1, p.141-171, 1967.

MARCIANO, J. A. **Pesquisa de** *Salmonella sp.*, *Cryptococcus neoformans* e anticorpos anti-*T. gondi* em pombos urbanos (*Columba livia*) no município de Jaboticabal-SP. 2004. 66f. Dissertação (Mestrado em Patologia animal)- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2004.

MAROBIN, L. et al. Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em emas ( *Rhea americana*) em diferentes criatórios do Estado do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science,** v.41, p.5-7, 2004.

MARTINS, C. S.; VIANA, J. A Toxoplasmose – o que todo profissional de saúde deve saber **Clínica Veterinária,** v. 3, n. 15, p. 33-35, 1998.

MEDEIROS, S. M.; LOPES, C. W. G. Pleomorfismo de uma amostra acistogênica de Toxoplasma gondii. Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmotinae) isolada de uma galinha naturalmente infectada. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 71-73, 1996.

MEIRELES, L. R. Estudos das Fontes de Infecção da Toxoplasmose humana em diferentes localidades do estado de São Paulo. 2001. 141f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Universidade de São Paulo, 2001.

MENDONÇA, A. O. Detecção de *Toxoplasma gondii* em lingüiças suínas tipo frescal, comercializadas no município de Botucatu, SP. 2003. 41f. Dissertação(Vigilância Sanitária)- Universidade de São Paulo, 2003.

MONTOYA, F. et al. Prevalência de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en bovinos y porcinos. **Boletim de la Oficina Sanitária Panamericana**, v. 91, n. 3, p. 219-227, 1981.

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

NAVARRO, I. T. et al. Toxoplasma gondii, isolamento a partir de carnes e cérebros de suínos comercializados na região de Londrina-Paraná. **Semina**. v.13, n. 1, p. 33-34, 1992.

OKOLO, M. J. O. Toxoplasmosis in animals and the health aspects. **International Journal of Zoonosis**, v. 12, n. 4, p. 247-256, 1985.

OLIVEIRA, F. C. R. et al. Distribuição e viabilidade de cistos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em tecidos de *Bos indicus, Bos taurus e Bubalus bubalis* infectados com oocistos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 28-34, 2001.

PATTON, S. Toxoplasmosis in the Zoogical Park. Annual Conference:Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians, p.189-191, 1993.

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

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

RUIZ, A.; FRENKEL, J. K. Intermediate andtransport hosts of Toxoplasma gondii in Costa Rica. American Journal of Tropical Medicin and Hygiene, v29, p.1161-1166, 1980.

SAWADOGO, P. et al. Seroprevalence of *T. gondii* in sheep from Mariake, Morocco. **Veterinary Parasitology**,v. 130, p.89-92, 2005

SILVA, A.V. E LANGONI, H. Alimentos de origem animal e a toxoplasmose humana. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n.71, p. 34-39, 2000.

SOUZA, S. et al. Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n.2, p. 133-136, 2006.

TSAI, Y. J et al. Prevalence of antibodies to *T. gondii* in pigeons(*Columba livia*) in Taiwan. **Journal of Parasitology**, v.92, n.4, p.871, 2006.

ULON, S. N. Inquérito sorológico de infecção toxoplasmática em ovinos abatidos em Santa Maria, RS, sua repercussão na saúde pública. 1996. 75p. Dissertação (Mestrado em Doença infecciosa de animais)- Universidade Federal de Santa Maria, 1996.

VENTURINI, M. C. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* from slaughterhouses and outdoor farm in Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 124p, p. 161-165, 2004.

VIDOTTO, O. Estudos Epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina-PR. **Semina**, v11, n.1, p.53-59, 1992.

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

WYSS, R. et al. The occorrence of *Toxoplasma gondi* and *Neospora caninum* as regards meat hygiene. **Schweiz Archive Tierheilkd,**v.142, p. 95-108, 2000.