

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**

**SAMIR BATISTA HAGE**

**FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE  
EM GATOS (*Felis catus*) DA MICROREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BA**

**ILHÉUS - BAHIA  
2015**

**SAMIR BATISTA HAGE**

**FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE  
EM GATOS (*Felis catus*) DA MICROREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual de Santa  
Cruz como exigência para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciência Animal

Área de concentração: Clínica e  
Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Alexandre  
Dias Munhoz

**ILHÉUS - BAHIA  
2015**

**SAMIR BATISTA HAGE**

**FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE  
EM GATOS (*Felis catus*) DA MICROREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BA**

Ilhéus – BA, 26/02/2015

---

Alexandre Dias Munhoz – DSc  
UESC/DCAA  
(Orientador)

---

Aristeu Vieira da Silva - DSc  
UEFS/DCBio

---

George Rêgo Albuquerque - DSc  
UESC/DCAA

**ILHÉUS-BAHIA  
2015**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que iluminando meu caminho me guiou neste trabalho.

Ao meu pai Antonio Hage e meu irmão Sahid Hage, um agradecimento especial pelo amor, apoio e carinho dedicados ao longo da minha vida.

A minha mãe Celeste Batista Hage que mesmo não estando presente fisicamente, mas sempre estará comigo nas lembranças, olhando e cuidando de mim onde estiver.

A minha namorada Clícia Marinho pelo companheirismo, pelas palavras de incentivo, compreensão e juro que irei compensar tudo isso.

Aos meus colegas e amigos de jornada da UESC, Luciana Carvalho, Jamille Rodrigues, Daniele Rocha, Mônia Andrade, Tatiany Harvey, Aísla Nascimento, que me ajudaram dando força, compartilhando conhecimentos e pelos momentos de descontração.

A colega Izabela Garcia que forneceu grande parte das amostras para que o projeto fosse realizado.

Ao professor Alexandre Dias Munhoz, que com dedicação e paciência aceitou me orientar durante todo o trabalho.

A todas as meninas da Iniciação Científica, em especial Rebeca Dálety que acompanhou e ajudou com eficiência e dedicação, principalmente nos dias de correria.

Aos amigos do Centro de Controle de Zoonoses de Itabuna, Sonia Lopo, Waldemar Oliveira e todos os funcionários que me ajudaram segurando as pontas no dia que não pude ir ao trabalho.

Ao Centro de Controle Zoonoses de Ilhéus, em nome de Aloísio pela parceria em fornecer as amostras para realização do projeto.

A todos os funcionários do Hospital Veterinário, Laboratório de Análises Clínica, a seu “Zé” do Biotério que ajudaram de alguma forma no meu projeto.

A Universidade Estadual de Santa Cruz que abriu as portas para realizar mais esta etapa em minha vida.

A UNESP de Jaboticabal que forneceram os controles positivos e negativos para realização do trabalho.

Enfim a todos que de forma direta ou diretamente participou dessa fase da minha vida.

Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los.

Independentemente das circunstâncias devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.

Dalai Lama

## FREQUENCIA E FATORES ASSOCIADOS À TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE EM GATOS (*Felis catus*) DA MICROREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BA

### RESUMO

O objetivo desse estudo foi determinar a frequência e os fatores associados à infecção pelo *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em gatos na microrregião de Ilhéus e Itabuna. Foram utilizados 231 gatos, sendo 201 domiciliados e 30 errantes provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ). Foi realizada uma entrevista semi-estruturada com os proprietários dos gatos domiciliados para identificação dos possíveis fatores associados. As amostras de sangue foram colhidas e realizadas a Reação de Imunofluorescência Indireta utilizando ponte de corte 1:64 para *T. gondii* e 1:50 para *N. caninum* e sorologia e nested-PCR para detecção do vírus da imunodeficiência felina. Os dados foram tabulados e analisados pelo programa EPIINFO 3.5.2, onde foi calculado o qui-quadrado com correção de Yates e chance de ocorrer com intervalo de confiança de 95%. As variáveis com plausibilidade biológica foram submetidas à análise da colinearidade e compuseram o modelo preliminar de regressão logística não condicional. Entre os gatos domiciliados 44,3% foram positivos para *T. gondii* e nos animais do CCZ 53,3%. Para *N. caninum* a positividade encontrada nos gatos domiciliados foi de 21,4% e nos gatos do CCZ foi de 23,3%. A co-positividade nos gatos domiciliados e do CCZ foram de 23,6% e 37,5%, respectivamente. A variável periurbano foi um fator associado a infecção por *T. gondii*. A infecção pelo vírus da imunodeficiência felina mostrou-se associada a infecção por *T. gondii* ( $p < 0,05$ ). Para *N. caninum* não foi encontrado nenhum fator associado. Conclui-se pelas prevalências encontradas que os gatos da região apresentaram facilidade de exposição aos agentes *T. gondii* e *N. Caninum* sinalizando para elevada infecção de hospedeiros intermediários e de contaminação ambiental de oocistos.

Palavras-chaves: Felinos. Reação imunofluorescência indireta. Epidemiologia. *Toxoplasma gondii*.

## FREQUENCY AND FACTORS ASSOCIATED WITH CATS IN TOXOPLASMOSIS AND NEOSPOROSIS (*Felis catus*) THE MICROREGION ILHÉUS-ITABUNA, BA

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the frequency and factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in cats in the micro region of Ilheus and Itabuna. 231 cats were used, 201 resident and 30 wandering from the Zoonosis Control Center (CCZ). A semi-structured interview with the owners of the resident cats for identification of the associated factors was performed. Blood samples were collected and conducted to indirect immunofluorescence using cutting bridge 1:64 to 1:50 *T. gondii* and *N. caninum* and serology and Nested PCR for detection of feline immunodeficiency virus. Data were tabulated and analyzed by EPIINFO 3.5.2 program, where we calculated the chi-square test with Yates correction and likely to occur with a 95% confidence interval. Variables with biological plausibility were analyzed for collinearity and composed the preliminary model of unconditional logistic regression. Among the cats domiciled 44.3% were positive for *T. gondii* and animals of the CCZ 53.3%. To *N. caninum* positivity found in resident cats was 21.4% and in the CCZ cats was 23.3%. Co-positivity in the resident cats and CCZ were 23.6% and 37.5%, respectively. The peri-urban variable was a factor associated with infection by *T. gondii*. The infection by feline immunodeficiency virus was associated with *T. gondii* infection ( $p < 0.05$ ). To *N. caninum* was found no associated. Conclui up factor for the prevalence found that cats in the region presented ease of exposure to *T. gondii* and *N. caninum* agents signaling to high infection of intermediate hosts and environmental contamination of oocysts.

Keywords: Cats. Indirect fluorescent antibody test. Epidemiology. *Toxoplasma gondii*.



## LISTA DE FIGURAS

1	(A) Oocisto esporulado de <i>Toxoplasma gondii</i> . (B) Oocisto esporulado com dois esporocistos contendo quatro esporozoítos (setas) (DUBEY et al., 1998).....	17
2	Micrografia eletrônica transmissão de um taquizoíta da cepa VEG do <i>T. gondii</i> em uma célula de exsudato peritoneal de camundongo. Am: grânulo amilopectina; Dg: grânulos elétron-denso; Go: complexo de Golgi; Mn: micronema; N: nucléolo; Nu: núcleo; Pv: vacúolo parasitóforo; Rh: roptria. (DUBEY et al., 1998).....	18
3	Ciclo de vida do <i>T. gondii</i> (SILVA et al., 2007).....	19
4	Cisto tecidual em cérebro contendo diversos bradizoítos (DUBEY et al., 2009).....	20
5	Esfregaço intestinal contendo esquizonte com diversos estágios de merozoítos merozoíta maior na ponta da seta e pequeno merozoíta na seta (DUBEY et al., 2009).....	21
6	Microgameta (seta) em esfregaço intestinal (DUBEY et al., 2009).....	21

## LISTA DE TABELAS

1	Determinação da prevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos no mundo.....	23
2	Determinação da prevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos no Brasil.....	24
3	Primers utilizados nas PCRs para FIV e GAPDH. Descrito a sequência de oligonucleotídeos, a região de origem no DNA pró-viral e o tamanho do produto amplificado.....	36
4	Titulação dos gatos domiciliados e do Centro de Controle de Zoonoses pertencentes à microrregião Ilhéus-Itabuna soropositivos para <i>Toxoplasma gondii</i> .....	39
5	Titulação dos gatos domiciliados e do Centro de Controle de Zoonoses pertencentes à microrregião Ilhéus-Itabuna soropositivos para <i>Neospora caninum</i> .....	40
6	Fatores com plausibilidade biológica associada à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.....	41
7	Fatores com plausibilidade biológica associada à infecção por <i>Neospora caninum</i> em gatos, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	42
8	Modelo preliminar da regressão logística não condicional dos fatores associados à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.....	43
9	Modelo final da regressão logística não-condicional dos fatores associados à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia, Brasil.....	43

**LISTA DE ANEXO E APÊNDICES**

Anexo A	Protocolo da Reação de Imunofluorescência-RIFI.....	57
Anexo B	Protocolo de extração do DNA genômico.....	58
Apêndice A	Ficha de Entrevista com os Proprietários e Orientação.....	59
Apêndice B	Planilha de Colinearidade de Spearman dos Fatores Associados	60

## Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	HISTÓRICO DE <i>Toxoplasma gondii</i> .....	16
2.2	CICLO BIOLÓGICO DE <i>Toxoplasma gondii</i> .....	17
2.3	PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS EM FELÍDEOS .....	22
2.4	CO-INFECÇÃO ENTRE <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Neospora caninum</i> .....	25
2.5	INFECÇÃO DO <i>Toxoplasma gondii</i> em GATOS.....	27
2.6	IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA.....	28
2.7	DIAGNÓSTICO DO <i>Toxoplasma gondii</i> em GATOS .....	29
2.8	PREVENÇÃO, CONTROLE E TRATAMENTO.....	31
3	OBJETIVOS.....	33
3.1	OBJETIVO GERAL .....	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	34
4.1	LOCAL DE ESTUDO, SELEÇÃO DOS ANIMAIS .....	34
4.2	COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS .....	34
4.3	COLETA DOS DADOS .....	35
4.4	SOROLOGIA.....	35
4.5	EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO.....	35
4.6	REALIZAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE.....	36
4.6.1	Reação em cadeia da polimerase para detecção do DNA pró-viral do FIV 37	
4.6.2	Reação em cadeia da polimerase para o GAPDH.....	37
4.7	REVELAÇÃO DOS PRODUTOS DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE.....	38
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38

5	RESULTADOS .....	39
6	DISCUSSÃO.....	44
7	CONCLUSÕES.....	47
8	REFERÊNCIAS .....	48
9	ANEXOS.....	57
10	APÊNDICES.....	59

# 1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma antropozoonose causada pelo protozoário intracelular obrigatório, *Toxoplasma gondii*, capaz de infectar o homem e um grande número de animais domésticos como répteis, aves, anfíbios e mamíferos (SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 1999). Tem distribuição cosmopolita, infectando de meio a um bilhão de pessoas no mundo e podendo causar desde infecções assintomáticas a graves quadros sistêmicos trazendo grandes problemas na saúde pública (SANTO et al., 2000).

A primeira descrição da toxoplasmose em gatos data de 1942 por Olafson e Monlux (1942) em um gato apresentando adenopatia, ulcerações intestinais e nódulos pulmonares, entretanto foram os trabalhos sobre o ciclo biológico do *T. gondii* que surgiram no fim da década de 60 e início dos anos 70 que contribuíram para a sua classificação moderna (VIDOTTO, 1992).

Na saúde pública suas implicações estão relacionadas diretamente aos grupos de risco, como gestantes, levando ao surgimento de abortos, em crianças promovendo alterações congênicas, a problemas oculares e em indivíduos imunossuprimidos tais como - pacientes positivo para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou que apresentam imunodeficiência severa podendo levar a óbito (TENTER et al., 2000). Em relação aos aspectos de produção animal, apresenta considerável relevância como importante agente causador de abortamentos, sendo considerado um dos maiores causadores de problemas reprodutivos na ovinocultura (JÚNIOR et al., 2012; TENTER et al., 2000).

*Toxoplasma gondii* por sua versatilidade e a depender do seu hospedeiro, pode ser infectante em qualquer estágio evolutivo (taquizoítos, bradizoítos/cistos e oocistos) o que amplia em condições naturais e em laboratório os riscos de infecção para os animais e para o homem (VIDOTTO, 1992).

Os felídeos são os hospedeiros definitivos, onde os gatos domésticos mantêm importante papel na epidemiologia da doença por eliminarem milhares de oocistos pelas fezes durante a primo-infecção. (DRABITZ; CONRAD, 2008). Por terem um hábito de vida livre e instintos de caça. Os gatos se infectam através da ingestão de taquizoítos ou bradizoítos (cistos teciduais) ao ingerir tecidos de pequenos roedores, aves ou mesmo carne crua quando esta é oferecida comoa estes são oferecido esse

tipo de alimentação (FIALHO et al., 2009). A infecção nos gatos na maioria das vezes é subclínica ou assintomática, entretanto nos animais sintomáticos os sinais clínicos mais comuns incluem problemas gastro-intestinais, respiratórios e neurológicos (ELMORE et al., 2010). Dentre os principais fatores de risco associados a *T. gondii* em gatos observa-se a idade, o habitat, ou seja, se tem acesso à rua ou não e o tipo de alimentação que é fornecida, como ingestão de carne crua, mal cozida ou a caça de pequenos roedores ou aves (MIRÓ et al., 2004; BRESCIANI et al., 2007).

Os felinos também podem servir de hospedeiro intermediário para *N. caninum*, podendo ser co-infectados para ambos os parasitos, entretanto o papel dos gatos na epidemiologia do *N. caninum* ainda é pouco conhecido (DUBEY et al., 1990, FERROGLIO et al. 2005)

A toxoplasmose é um doença de distribuição cosmopolita e no Brasil, a soroprevalência é bastante variada em gatos indo de 5,6% a 87,3% (BASTOS et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2006), entretanto na nossa região não há dados sobre a prevalência da doença nos gatos, bem como quais os fatores que podem estar associados a infecção, o que justifica a realização deste estudo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO DE *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório, descoberto simultaneamente em São Paulo no Brasil por Splendore (1908) em um coelho, e no Instituto Pasteur de Tunis na África, por Nicolle e Manceaux (1908) no *Ctenodactylus gondii*, um roedor africano, até então utilizado para pesquisa de leishmaniose. O parasito, inicialmente considerado por estes autores como pertencente ao gênero *Leishmania*, foi caracterizado em 1909, como uma nova espécie, denominada *T. gondii* (DUBEY, 2008).

A patogenicidade de *T. gondii* foi reconhecida nas décadas de 1920 e 1930, em crianças infectadas congenitamente apresentando-se com a clássica tríade de sintomas, ou seja, hidrocefalia, retinocoroidite e encefalite (INNES, 2010).

O primeiro isolamento viável de *T. gondii* proveniente de camundongo ocorreu em 1937 por Sabin e Olitsky e em 1948 Sabin e Feldman criaram o teste do corante (Dye Test), permitindo que inúmeros pesquisadores estudassem os aspectos clínicos e epidemiológicos da doença, a qual após diversos estudos foi descrita como uma doença de alta prevalência em todo o mundo e assintomática na maioria dos hospedeiros (SABIN; FELDMAN, 1948).

Em 1960, Jacobs demonstrou que os bradizoítas dos cistos teciduais poderiam sobreviver a exposição do ácido clorídrico e a tripsina, confirmando o possível papel da ingestão do cisto na transmissão do parasita, mas o papel desempenhado de comer carne crua ou mal cozida na transmissão de *T. gondii* para o ser humano foi confirmada por Desmonts em 1965 (FERGUSON, 2009).

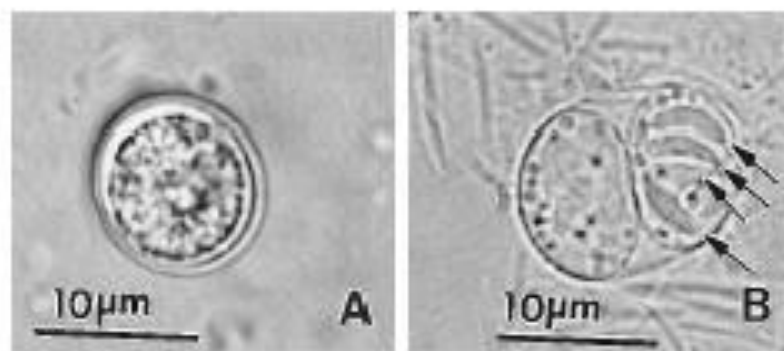
A descoberta do gato como hospedeiro definitivo associando a liberação de oocistos pelas fezes por Hutchison em 1965 foi um achado importante, uma vez que ajudou a elucidar a compreensão do ciclo de vida do parasito (DUBEY, 2009). Dubey et al., (1970) relataram os estágios sexuais e assexuais no intestino dos gatos, além de descreverem e caracterizarem os oocistos de *T. gondii* encontrados nas fezes dos gatos infectados.



## 2.2 CICLO BIOLÓGICO DE *Toxoplasma gondii*

Dubey (1986) relata três vias de infecção primária: congênita, carnivorismo e fecal-oral, destacando que o gato doméstico e os felídeos selvagens são os hospedeiros definitivos de *T. gondii*. Embora existam outras possibilidades de infecção como transfusão de sangue, transplantes, na natureza as formas mais importantes são através da ingestão de carne e oocistos esporulados.

Os oocistos esporulados (Figura 1) são uma das formas infectantes mais importantes, quer pela facilidade de disseminação (fezes no solo), quer pela resistência aos agentes químicos e físicos e com a capacidade de infectar indistintamente animais herbívoros, onívoros, carnívoros e o próprio homem (VIDOTTO, 1992). Possui formato subsférico a elipsoidal, medindo de 11-13  $\mu\text{m}$  de diâmetro e no seu interior contém dois esporocistos e cada um contendo quatro esporozoítos; já os oocistos não esporulados possuem formato subsférico a esférico, medindo de 10-12  $\mu\text{m}$  de diâmetro, sua parede celular é constituída de duas camadas incolores, sem grânulos polares e a sua esporulação ocorre no ambiente dependendo de fatores como umidade e temperatura (DUBEY et al., 1998).

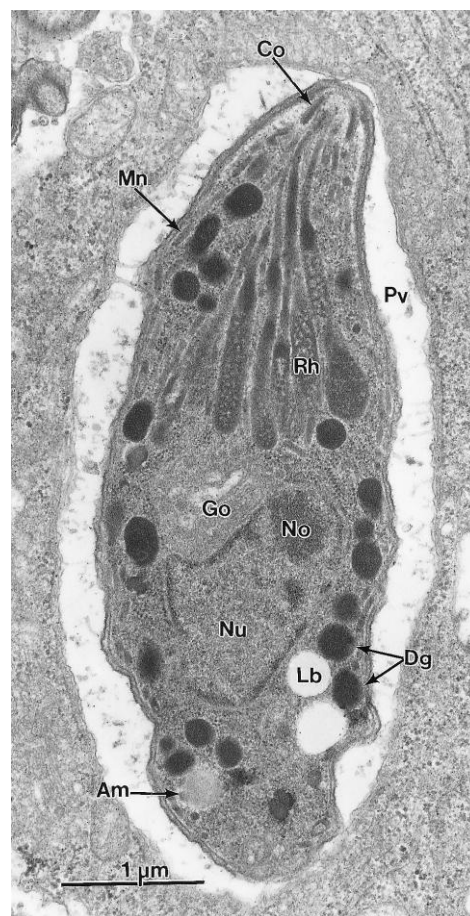


**Figura 1.** (A) Oocisto esporulado de *Toxoplasma gondii*. (B) Oocisto esporulado com dois esporocistos contendo quatro esporozoítos (setas) (DUBEY et al., 1998).

Os taquizoítos são descritos como o estágio de rápida multiplicação do *T. gondii* nas células do hospedeiro, do grego (*tachos*= rápido), podendo medir entre 6  $\mu\text{m}$  de comprimento por 2  $\mu\text{m}$  de largura, em formato crescente com a extremidade anterior pontiaguda e a posterior em formato arredondado (Figura 2) (DUBEY et al., 1998). Além disso, apresentam núcleo central, pouco ou nenhum grânulo positivo ao

ácido periódico de Schiff, sendo encontrado mais na fase aguda e pouco resistente ao suco gástrico (DUBEY, 1998).

Os taquizoítos possuem na sua extremidade anterior organelas chamadas roptrias, que secretam enzimas para facilitar sua penetração na célula do hospedeiro. Após sua penetração de forma ativa, o mesmo torna-se ovoide e envolto por membranas constituindo numa estrutura chamada de vacúolo parasitóforo desencadeando uma resposta imune ao hospedeiro levando a formação de cistos (DUBEY et al., 1998; BLACK; BOOTHROYD, 2000).



**Figura 2:** Micrografia eletrônica transmissão de um taquizoíta da cepa VEG do *T. gondii* em uma célula de exsudato peritoneal de camundongo. Am: grânulo amilopectina; Dg: grânulos elétricos densos; Go: complexo de Golgi; Mn: micronema; N: nucléolo; Nu: núcleo; Pv: vacúolo parasitóforo; Rh: roptria. (DUBEY et al., 1998).

Os bradizoítos correspondem à fase de multiplicação lenta de *T. gondii*, sendo encontrados dentro do cisto tecidual (DUBEY et al., 1998). Apresentam núcleo localizado terminal, muitos grânulos positivo ao ácido periódico de Schiff, são fechados em parede resistente e mais prevalente na fase crônica; além disso,

menos susceptíveis a quimioterapia e resistentes a digestão pela pepsina e tripsina. A localização e o número diferem com o hospedeiro e o tipo de cepa de *T. gondii*, em ratos e camundongos são mais encontrados no cérebro do que nas vísceras, entretanto em mamíferos maiores os cistos teciduais estão presentes mais na musculatura do que no cérebro (DUBEY, 1998).

O ciclo biológico de *T. gondii* compreende uma fase assexuada, que ocorre tanto nos hospedeiros definitivos como nos intermediários, e uma fase sexuada, que acontece somente nos felídeos (Figura 3).

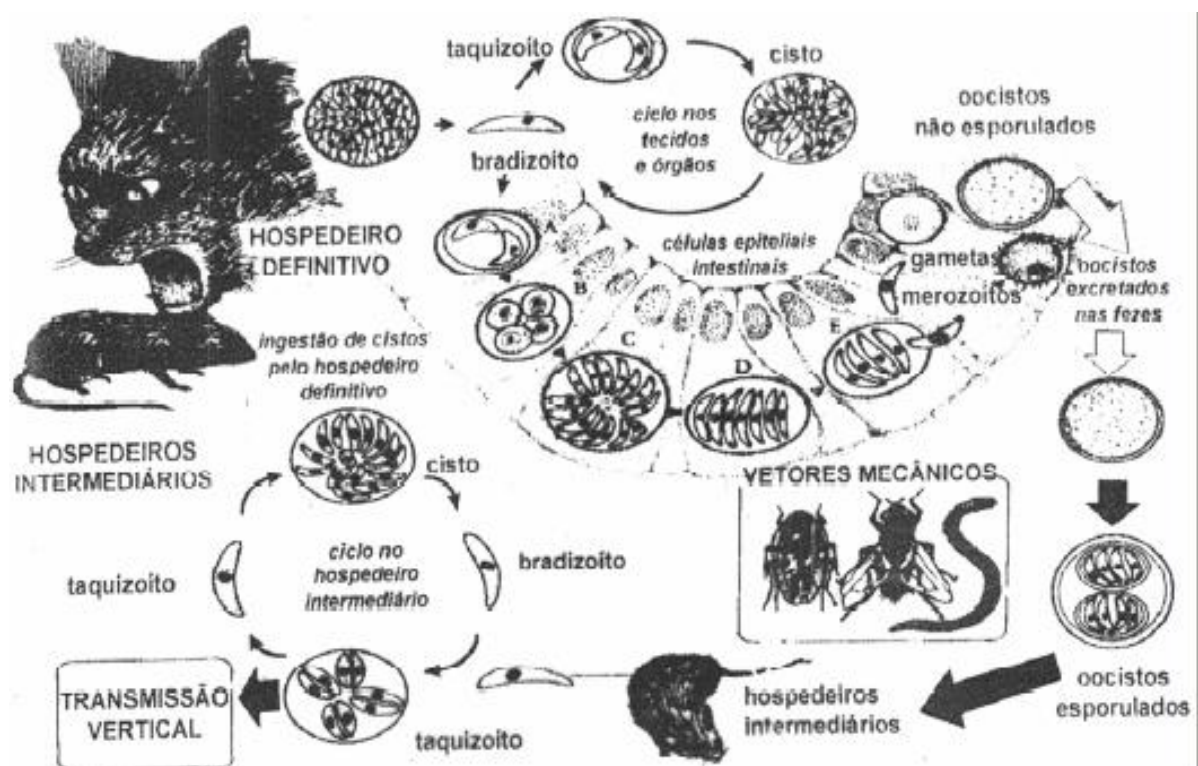
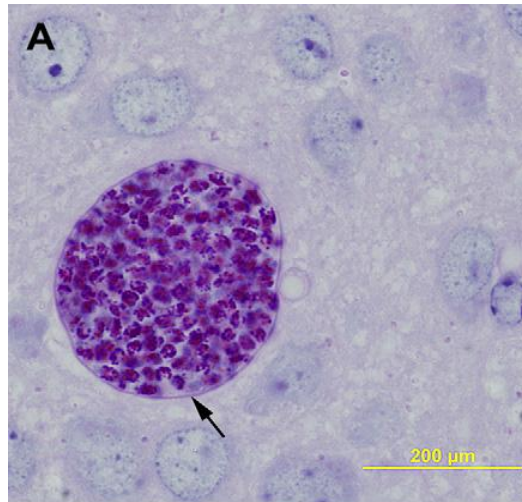


Figura 3. Ciclo de vida do *T. gondii* (SILVA et al., 2007).

Na fase assexuada, os cistos ou oocistos, após serem ingeridos e sob a ação das enzimas digestivas, têm as suas formas infectantes, bradizoítos e esporozoítos, liberadas no lúmen intestinal, as quais rapidamente invadem as células, formando vacúolos parasitóforos, onde se multiplicam por endodiogenia e se interconvertem em taquizoítos. Em seguida, ocorre a disseminação dos taquizoítos pelo organismo, a partir do tecido linfóide associado ao intestino, sistemas linfáticos e sanguíneos, para praticamente todos os órgãos do corpo. Após 10 a 14 dias da infecção os taquizoítos, se diferenciam em bradizoítos que formam os cistos (Figura 4), e que

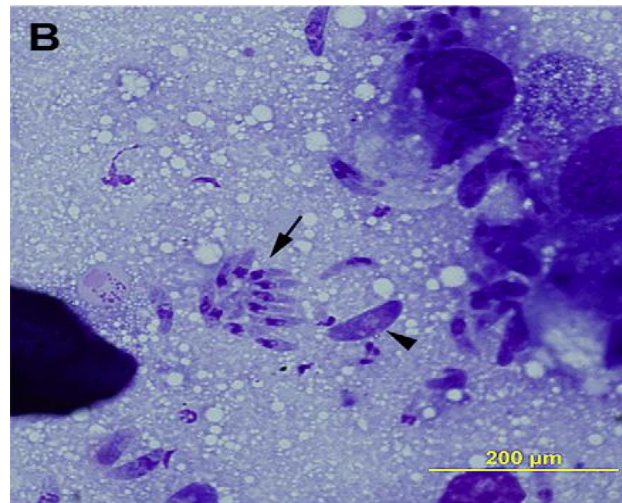
podem permanecer latentes durante toda vida do hospedeiro sem causar sintomatologia (BLACK; BOOTHROYD, 2000).



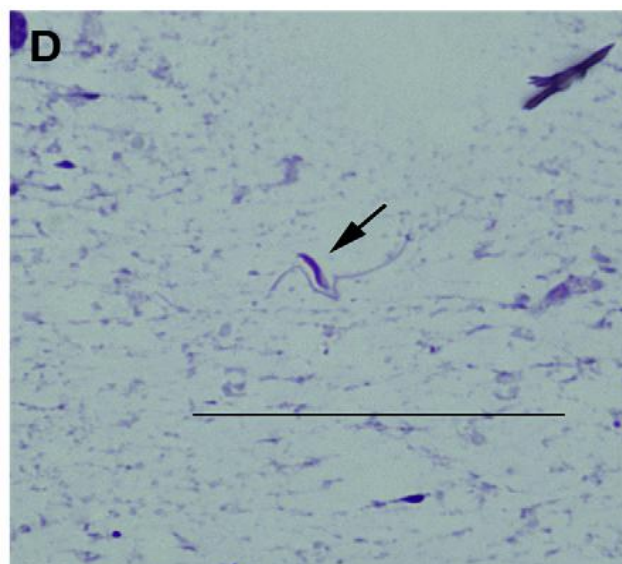
**Figura 4.** Cisto tecidual em cérebro contendo diversos bradizoítos (DUBEY et al., 2009).

Já os cistos teciduais encontrados nos hospedeiros intermediários que contém no seu interior os bradizoítos, desempenham um papel importante na infecção dos carnívoros e no homem retroalimentando a cadeia epidemiológica da toxoplasmose quando o hospedeiro definitivo se infecta ao ingerir pequenos roedores, aves ou pequenas presas silvestres contendo esses cistos, constituindo na fase sexuada ou ciclo enteroepitelial (VIDOTTO, 1992).

Essa fase ocorre somente nos felídeos com a ingestão de cistos, oocistos ou até mesmo taquizoítos, com a liberação dos bradizoítos ou esporozoítos, estes penetram nas células epiteliais do intestino delgado e iniciam uma série de gerações assexuadas. Os esporozoítos ou bradizoítos penetram no epitélio intestinal e se multiplicam por endodiogenia em merogonia (esquizogonia), dando origem a vários merozoítos. O conjunto desses merozoítos formados dentro do vacúolo parasitóforo da célula é denominado meronte ou esquizonte maduro (Figura 5). Os merozoítos penetram em novas células epiteliais e se transformam nas formas sexuadas masculinas e femininas, os gametócitos ou gamontes (Figura 6), que após um processo de maturação, formam os gametas masculinos móveis - microgametas (com dois flagelos) e femininos imóveis (macrogametas). Os macrogametas permanecem dentro de células epiteliais, onde são fecundados. Após a fecundação, uma parede se forma ao redor do gameta feminino originando o oocisto o qual é eliminado na forma não esporulado nas fezes (BLACK; BOOTHROYD, 2000).



**Figura 5.** Esfregaço intestinal contendo esquizonte com diversos estágios de merozoítos, merozoíta maior na ponta da seta e pequeno merozoíta na seta (DUBEY et al., 2009).



**Figura 6.** Microgameta (seta) em esfregaço intestinal (DUBEY et al., 2009).

O gato começa a eliminar oocistos junto com as fezes de três a dez dias após a ingestão de tecido contendo cistos do protozoário. Os oocistos tornam-se infectantes no ambiente somente depois de um a cinco dias, já a excreção dos oocistos pode durar, em média, entre uma a duas ou três semanas, após a primeira exposição do gato ao parasito (SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 2009). Com relação a eliminação de oocistos após a ingestão de taquizoítos ou oocistos esporulados, ocorre a partir de 13 ou 18 dias, respectivamente (DUBEY, 1998).

### 2.3 PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS EM FELÍDEOS

Estudos sobre a prevalência de *T. gondii* tem sido objeto em diversos trabalhos nas últimas décadas. Valendo-se de diferentes técnicas sorológicas diversos autores chegaram a distintos resultados de soroprevalência e essas discrepâncias na positividade podem ser devido às técnicas, que apresentam sensibilidade e especificidade diferentes, ponto de corte, seleção dos animais, local ou hábito de vida dos animais (VIDOTTO, 1992). Nas Tabelas 1 e 2 observam-se alguns estudos sobre a positividade de *T. gondii* em diversas partes do mundo e no Brasil, respectivamente.

Diversos estudos epidemiológicos avaliaram como fatores de risco para a infecção de *T. gondii* em gatos, o sexo, a idade, raça, o habitat de vida, ou seja, se o animal tem acesso à rua ou não e o tipo de dieta fornecida, se come carne crua ou não. Araújo et al. (2003) avaliaram a frequência de *T. gondii* em gatos na cidade de Porto Alegre e encontraram uma associação positiva entre a idade dos animais e o resultado sorológico, na qual os animais mais velhos tiveram uma prevalência maior do que os animais mais jovens. Essa mesma associação também foi encontrado em trabalhos realizados por LANGONI et al. (2001), CRAEYE et al. (2008), GARCIA et al. (1999), BRESCIANI et al. (2007), HADDADZADEH et al. (2006), DUBEY et al. (2009) e HORNOK et al. (2008).

Outros trabalhos correlacionaram como fatores de risco à associação entre a idade e o acesso à rua. Miró et al. (2004) demonstraram uma soroprevalência de 32,3% positivos em 585 soros testados e encontram diferença significativa em gatos de rua e propriedades rurais quando comparados com gatos domiciliados, sendo que os primeiros apresentaram uma prevalência maior.

Estudos realizados por Rosa et al. (2010) no município de Lages em Santa Catarina e por Pinto et al. (2009) em Porto Alegre também encontraram como fatores de risco com maior correlação entre os animais positivos a idade e acesso à rua. Esses mesmos fatores foram relacionados em estudos realizados por DUBEY et al. (2002), KULASENA et al. (2011), DESKNE et al. (2013), GAUSS et al. (2003) e BRAGA et al. (2012).

**Tabela 1-** Determinação da prevalência de *Toxoplasma gondii* em gatos no mundo

<b>País</b>	<b>Teste utilizado</b>	<b>Ponto de corte</b>	<b>N</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Referência</b>
<b>Peru</b>	HAI <sup>1</sup>	1:16	178	11,2	Cerro et al., 2009
	RIFI <sup>2</sup>	1:16		17,9	
<b>China</b>	MAT <sup>3</sup>	1:10	34	79,4	Dubey et al., 2007
<b>Espanha</b>	RIFI	1:80	585	32,3	Miró et al., 2004
<b>México</b>	ELISA <sup>4</sup>	-	80	28,8	García-Márquez et al., 2007
<b>EUA*Ohio</b>	MAT	1:25	275	48	Dubey et al., 2002
<b>Bélgica</b>	RIFI	1:40	567	25	Craeye et al., 2008
<b>Portugal</b>	MAT	1:20	204	35,8	Lopes et al., 2008
<b>Letônia</b>	ELISA	1:50	242	51,6	Deksne et al., 2013
<b>Tailândia</b>	LAT <sup>5</sup>	1:64	36	8,3	Arunvipas et al., 2013
<b>EUA*</b>	MAT	1:25	210	19,5	Dubey et al., 2009
<b>Pensilvânia</b>					
<b>Hungria</b>	RIFI	1:20	330	47,6	Hornok et al., 2008
<b>Espanha</b>	MAT	1:25	220	45	Gauss et al., 2003
<b>Colômbia</b>	MAT	1:25	86	30,2	Kulasena et al., 2011
<b>Índia</b>	MAT	1:20	106	84,9	Moura et al., 2007
<b>Ocidental</b>					
<b>Irã</b>	RIFI	1:32	100	63	Haddadzadeh et al., 2006
<b>Coréia do Sul</b>	HAI	1:64	98	9,8	Youn et al., 2011
<b>França</b>	MAT	1:20	301	18,6	Afonso et al., 2006

<sup>1</sup>Teste de Hemaglutinação Indireta; <sup>2</sup>Reação de Imunofluorescência Indireta <sup>3</sup>Teste Aglutinação Modificada; <sup>4</sup>Enzyme-linked Immunosorbent Assay; <sup>5</sup> Teste de aglutinação em látex; <sup>6</sup>Aglutinação Direta Modificada

\*EUA: Estados Unidos da América



Tabela 2- Determinação da prevalência de *Toxoplasma gondii* em gatos no Brasil

Estado	Técnica utilizada	Ponto de corte	N	Positivos (%)	Autor
Rio Grande do Sul	HAI	1:64	100	37	Araújo et al., 2003
São Paulo	RIFI	1:16	115	27,8	Lucas et al., 1998
Rio de Janeiro	ELISA	-	41	2,44	Netto et al., 2003
São Paulo/Paraná	HAI	-		21,9	
	RIFI	1:16	191	19,4	Langoni et al., 2001
Paraná	RIFI	1:16	163	73	Garcia et al., 1999
Rio Grande do Sul	HAI	1:64	245	26,9	Pinto et al., 2009
	RIFI	1:16		37,9	
Paraná	RIFI	1:16	173	73	Navarro et al., 1999
Acre	RIFI	1:64	89	24,71	Federle et al., 2014
Paraná	RIFI	-	171	28,07	Bittencourt et al., 2014
Paraná	RIFI	1:16	79	52,5	Monteiro et al., 2014
Paraná	RIFI	1:50	124	16,12	Ferreira et al., 2014
Maranhão	RIFI	1:40	200	50,5	Braga et al., 2012
São Paulo	MAT	1:20	502	26,3	Silva et al., 2002
São Paulo	RIFI	1:64	70	15,7	Coelho et al., 2011
Santa Catarina	RIFI	1:64	300	14,33	Rosa et al., 2010
São Paulo	RIFI	1:16	248	17,7	Lucas et al., 1999
São Paulo	MAT	1:25	237	35,4	Pena et al., 2006
Paraná	MAT	1:10	58	84,4	Dubey et al., 2004
Mato Grosso do Sul	RIF	1:40	151	32,4	Sousa et al., 2014
Mato Grosso do Sul	MAD <sup>6</sup>	1:25	14	57,14	Marques et al., 2009
São Paulo	MAD	1:16	100	19	Silva et al., 2002
	RIFI	1:16		18	
Paraná	RIFI	-	Zu*:80 Pu*:11	45 81,81	Carletti et al., 2002
São Paulo	RIFI	1:64	400	25	Bresciani et al., 2007
Rio de Janeiro	HAI	1:16	108	5,6	Bastos et al., 2014
Rondônia	MAT	1:25	63	87,3	Cavalcante et al., 2006
	RIFI	1:25		87,3	

\*Zu: Zona Urbana Pu: Peri-Urbana



Estudo realizado na região nordeste de Portugal, Lopes et al. (2008) correlacionaram à idade, acesso à rua, já que os gatos tem maior chance de caçar aves ou pequenos roedores e o tipo de dieta, acesso à carne crua ou vísceras contendo os cistos e encontraram os três fatores como de importância para a infecção. Esse mesmos fatores foram correlacionados por Lucas et al. (1999) no estado de São Paulo que analisaram 248 soros de gatos e constataram uma prevalência de 17,7%, sendo a frequência maior em gatos mais velhos, naqueles alimentados com carne crua e com livre acesso à rua.

Coelho et al. (2011) encontraram forte correlação entre a dieta e o acesso à rua como importantes fatores predisponentes para contaminação com o *T. gondii*. Os resultados demonstram que o tipo de alimentação e a manutenção do animal exclusivamente domiciliar ou com livre acesso à rua são fatores de risco igualmente importantes na ocorrência na infecção toxoplásmica em gatos.

Na cidade de Colima no México, García-Márquez et al. (2007) pesquisando anticorpos de *T. gondii* em 80 soros de gatos domésticos encontrou prevalência de 28,8% e a principal associação foi o tipo de alimentação, onde os animais que eram alimentados com comida caseira tiveram maior prevalência do que aqueles alimentados com alimentos comerciais.

Silva et al. (2007) em estudo realizado em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil encontraram uma prevalência de 55% dos animais e o fator de maior relevância demonstrado foi o tipo de dieta, que era fornecida sem nenhum tipo de processo de preparação como congelamento ou cozimento.

#### **2.4 CO-INFECÇÃO ENTRE *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum***

*Neospora caninum* é um parasito coccídeo dos animais, onde sua maior patogenicidade ocorre nos bovinos causando abortamentos e nos cães causando distúrbios neurológicos, entretanto pode infectar um grande número de animais como cavalos, ovelhas, cabras e cervos. Os canídeos são os hospedeiros definitivos desse protozoário (DUBEY, 2003). Sua transmissão nos bovinos se dá pela via oral ao ingerir água ou alimento contaminado com os oocistos que são liberados nas fezes dos cães e principalmente pela via transplacentária; já nos carnívoros a

infecção pode se dá pela ingestão de tecido infectado e pela via transplacentária (MCALLISTER et al., 1998; DUBEY; LINDSAY, 1989).

Apesar do *N. caninum* e *T. gondii* serem parasitas estreitamente relacionados estruturalmente, geneticamente e imunologicamente, entretanto são doenças biologicamente distintas, já que a toxoplasmose é uma das principais doenças de ovinos e seres humanos e não de bovinos e a neosporose ser uma enfermidade principalmente de bovinos e sem nenhuma evidência de infecção no ser humano (DUBEY, 2003). Embora casos clínicos de infecção por *N. caninum* não serem relatados em gatos, gatos imunocompetentes e gatos utilizando corticosteroide podem ser infectados com sucesso em laboratório ao serem inoculados com taquizoítos por via oral e intramuscular, com isso produzindo lesões semelhantes as que são observadas nos cães (DUBEY et al., 1990).

Bresciani et al. (2007) avaliaram a prevalência de *N. caninum* e *T. gondii* em 400 gatos domésticos da cidade de Araçatuba, São Paulo utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com ponto de corte 1:16 e 1:64, respectivamente e encontraram uma positividade de 98 (24,5%) para *N. caninum* e de 100 (25%) para *T. gondii* e a infecção para ambos os parasitas foi 41 (10,3%); entretanto Coelho et al. (2011) também avaliaram a co-infecção entre ambos os parasitas na cidade de Andradina, São Paulo em gatos domésticos utilizando a mesma técnica e mesmo ponto de corte e encontraram uma prevalência de 15,7% (11/70) para *T. gondii* e nenhum animal positivo para *N. caninum*.

Sousa et al. (2014) em Campo Grande, Mato Grosso do Sul encontraram uma prevalência de 49 (32,2%), 34 (22,3%) e 10 (6,5%) em 151 gatos utilizando o Teste de Imunofluorescência Indireta para *T. gondii*, *N. caninum* e *L. infantum* e a co-infecção entre *T. gondii* e *N. caninum* foi de 17 (11,2%).

Em São Luís do Maranhão, Braga et al. (2012) avaliando a co-infecção entre *T. gondii* e *N. caninum* em 200 gatos domésticos com acesso à rua encontraram uma prevalência de 13,5% (27/200) para ambos os parasitas, 50,5% (101/200) para *T. gondii* e 27% (54/200) para *N. caninum*, utilizando a RIFI e ponto de corte 1:40 e 1:25, respectivamente.

Dubey et al. (2002) encontraram uma prevalência de 11,9%, ou seja, 60 gatos de 502 avaliados pelo Teste de Aglutinação Neospora (NAT) na cidade de São Paulo e Guarulhos, estado de São Paulo.

Hornok et al. (2008) na Hungria, encontraram maior prevalência para *T. gondii* (47,6%) e baixa para *N. caninum* (0,6%) de 330 gatos analisados pelo Teste de Imunofluorescência Indireta (IFAT).

Ferroglio et al. (2005) utilizando o Teste de Aglutinação Neospora (NAT) em três diluições 1:80, 1:160 e 1:320, para avaliar *N. caninum* em 282 amostras de soro de gato de rua em diversas colônias rurais de Turin no noroeste da Itália, encontraram prevalências de 24,8%, 12,8% e 5,3%, respectivamente demonstrando que o risco de exposição à infecção é alto nos gatos.

Hamidinejat et al. (2011) estudaram a soroprevalência em 100 gatos selvagens na cidade de Ahvaz no Irã utilizando o Teste de Aglutinação Modificado (MAT) para *T. gondii* e o Teste de Aglutinação Neospora (NAT) e encontraram uma prevalência de 54% para anticorpos de *T. gondii*, 19% para anticorpos de *N. caninum* e apenas 2% para ambos os parasitas, demonstrando a importância dos gatos selvagens como hospedeiros de ambos os parasitos.

## **2.5 INFECÇÃO DO *Toxoplasma gondii* em GATOS**

A infecção nos gatos normalmente é de forma subclínica ou assintomática, entretanto gatos recém-nascidos, infectados congenitamente, podem desenvolver sinais clínicos e gatos adultos clinicamente saudáveis podem ser afetados se estiverem com alguma doença imunossupressora (ELMORE et al., 2010; SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 2009).

Os gatos recém-nascidos são mais severamente acometidos pela toxoplasmose podendo nascer morto ou morrer antes do desmame, apresentando ainda reação inflamatória no fígado, pulmões e sistema nervoso central, distensão abdominal devido à hepatomegalia e ascite (DUBEY et al., 2009). Os sinais clínicos mais comuns nos gatos adultos são anorexia, letargia, dispneia devido à pneumonia, febre persistente ou intermitente, perda de peso, icterícia devido à hepatite ou colangiohepatite, vômito, diarreia, efusão abdominal, hiperestesia, andar rígido, dermatite, perda da visão, deficiência neurológica, pancreatite, miosites, miocardites e uveítes (DUBEY, JONES, 2008; DUBEY et al., 2009; ELMORE et al., 2010). Esses sinais corroboram como os mesmos encontrados por Dubey e Powell (2013) em um gato atendido no Hospital Veterinário de Beltsville, Maryland com sinais clínicos de

anorexia, letargia, diarreia, dificuldade respiratória e corrimento nasal com duração de uma semana, no qual seu diagnóstico para *T.gondii* foi confirmado através de exame parasitológico das fezes e teste sorológico pelo teste de aglutinação modificado (MAT).

Silva et al. (2010) analisaram o efeito de *T. gondii* na parede do duodeno em gatos com três meses de idade e alimentados experimentalmente com cistos teciduais obtidos de camundongos e observaram atrofia da túnica mucosa, muscular e parede intestinal do duodeno, além de aumento significativo na altura dos enterócitos e fibras colágenas ocupando a maior parte dos estratos da parede intestinal.

## 2.6 IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA

A toxoplasmose trata-se de uma importante zoonose, de grande interesse em saúde pública, pois pode provocar sérios danos aos fetos, tanto em humanos quanto nos animais, podendo acometer todos os animais homeotérmicos (NEGRI et al., 2008).

Em um estudo realizado por Chiari e Neves (1984) demonstraram que três membros da mesma família foram acometidos por toxoplasmose aguda após a ingestão de leite de cabra não pasteurizado nem fervido na região de Belo Horizonte.

Daguer et al. (2004) em um estudo sobre a soroprevalência de anticorpos contra *T. gondii* pela Reação de Imunofluorescência Indireta, em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco-PR, concluíram que os manipuladores e os consumidores de carne desta espécie, devem ser alertados quanto ao risco de infecção por *T. gondii*.

Navarro et al. (1999) analisaram correlações entre títulos de anticorpos contra *T. gondii* em pesquisa sorológica no município de Jaguapitã, Paraná, e observaram associações positivas e significativas entre as espécies hominívoras, carnívoras e herbívoras. Os resultados demonstraram a elevada prevalência da toxoplasmose na população estudada, e conseqüentemente o alto risco da carne como via de transmissão para o homem.

Nos Estados Unidos, Jones et al. (2009) avaliaram pacientes que consumiam carne bovina moída crua, carne de cordeiro, carne seca, defumada ou curada e leite de cabra não pasteurizado e encontrou que a exposição de certos alimentos crus ou mal cozidos estão correlacionados como fatores de risco para a doença no país.

Thomas et al. (2013) concluíram em seus estudos fazendo investigação sobre incidência nacional de casos de câncer no cérebro que *T. gondii* aumentaria a chance em 1,8 vezes ao aparecimento dessa enfermidade em adultos, pois o parasita tem uma durabilidade maior quando encistado e com isso levaria a inflamação e inibindo a apoptose.

Com relação às mulheres grávidas a toxoplasmose é de extrema importância principalmente no primeiro trimestre de gestação, pois pode levar a abortos ou neonatos com má formação. Zemene et al. (2012) na cidade de Jimma no sudoeste da Etiópia encontraram uma prevalência de 81,1% das mulheres gestantes tendo como fator de risco a presença de gatos na residência.

Em estudo também realizado na Etiópia na cidade de Addis Ababa com felídeos selvagens, Dubey et al. (2013), observaram uma prevalência de 41% em crianças de um a cinco anos com toxoplasmose congênita, concluindo que essa alta prevalência pode está associada à alta contaminação do meio ambiente pelos oocistos liberados nas fezes desses felídeos.

## **2.7 DIAGNÓSTICO DO *Toxoplasma gondii* em GATOS**

O diagnóstico do parasito pode ser realizado de forma direta (oocistos nas fezes ou identificação de taquizoítos ou cistos em tecidos ou fluidos corporais do hospedeiro) e por métodos indiretos (sorológicos). A pesquisa direta dos oocistos pode ser realizada nas fezes dos felídeos, por método da centrifugo-flutuação em soluções hipertônicas no período de eliminação do ciclo enteroepitelial, mas como a maioria dos gatos são assintomáticos durante esse ciclo, o exame das fezes não é um bom método de diagnóstico (FIALHO et al., 2009).

As amostras biológicas obtidas de punções e biópsias podem ser examinadas a fresco ou em esfregaços, para pesquisa do parasito com auxílio de microscópio. O exame direto a fresco de fluidos corpóreos e os esfregaços corados são pouco utilizados devido à baixa sensibilidade. As técnicas histológicas são rotineiramente

utilizadas no diagnóstico *post-mortem* da toxoplasmose (Hematoxilina-Eosina, Peroxidase-Anti-peroxidase, Ácido Periódico de Schiff). A Hematoxilina-Eosina embora frequentemente utilizada, não é adequada para diagnóstico da toxoplasmose aguda por não permitir uma perfeita visualização do parasita, a não ser em caso de cistos teciduais e reação inflamatória intensa (VIDOTTO, 1992).

As técnicas de imunohistoquímica como a peroxidase-anti-peroxidase e streptavidina-peroxidase identificam de forma muito sensível e específica os parasitos nos cortes histopatológicos (ARAÚJO et al., 1998).

Já os testes sorológicos detectam a presença de anticorpos antitoxoplasma, eles baseiam-se na identificação de imunoglobulinas G (IgG) específica; a soro-conversão ocorre após duas a quatro semanas da infecção, com seu pico ocorrendo quatro a seis semanas posteriores. Os títulos se mantêm com níveis altos durante meses a anos e para detectar uma infecção recente é necessário verificar um aumento contínuo por período de duas a quatro semanas (ARAÚJO et al., 1998 SPÓSITO FILHA, OLIVEIRA, 2009).

Dentre as técnicas mais empregadas podemos destacar a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) possuindo uma alta sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade consolidando-se como uma técnica de uso rotineiro. O teste imunoenzimático ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) apresenta princípio de funcionamento semelhante ao da RIFI e é considerado um excelente teste para detecção de anticorpos contra o *T. gondii* em soro humano e animal superando em sensibilidade a RIFI, além de apresentar algumas vantagens como rapidez, objetividade e automação (VIDOTTO, 1992).

O Teste de Aglutinação Direta foi desenvolvido por Fulton em 1965, melhorado por Desmonts e Remington em 1980 e em 1987 Dubey e Desmonts a chamou de Teste de Aglutinação Modificada (MAT) sendo extensivamente usado para o diagnóstico da toxoplasmose em animais, além de ter uma boa sensibilidade (WEISS, DUBEY, 2009). Em estudo comparando as técnicas de Reação de Imunofluorescência Indireta e o Método de Aglutinação Direta em soro de 100 gatos proveniente do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campos de Botucatu, constatou-se que não houve diferença significativa entre as provas, indicando concordância entre os dois métodos (SILVA et al., 2002).

A Hemoaglutinação Indireta é um teste que utiliza antígenos solúveis absorvidos em hemácias de carneiro ou humana, além de ser um método simples, não é espécie-específico podendo ser usado em soro humano ou animal e tem elevada praticidade. Tem como desvantagem dificuldade de estabilização das hemácias sensibilizadas e não permitir o diagnóstico da infecção congênita (VIDOTTO, 1992).

Outras técnicas diagnósticas, tanto para humanos quanto para animais, são citados na literatura como, por exemplo, Sabin-Feldman, Hemoaglutinação em látex e Imunoblot (HILL, DUBEY, 2002).

## **2.8 PREVENÇÃO, CONTROLE E TRATAMENTO**

A prevenção da toxoplasmose requer conhecimento preciso da cadeia epidemiológica da doença, estabelecendo-se com exatidão a possível fonte de infecção que pode estar representado por contato com os oocistos eliminados nas fezes dos felídeos ou principalmente por alimentos contaminados (VIDOTTO, 1992).

Com relação a situações domiciliares a prevenção requer limpeza diária dos gatis e remoção adequada das fezes, medidas higiênicas como lavagem das mãos, usar luvas de jardinagem, mulheres grávidas não devem efetuar limpeza de gatis e não deve dar carne crua a gatos ou deixar os felinos terem acesso à rua, lavar bem às frutas, ingerir somente leite pasteurizado, evitar que o gato se alimente com insetos, roedores ou pássaros e evitar a presença de gatos estranhos (SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 1999). Dubey (1996) recomenda que a carne seja cozida a uma temperatura de 67°C ou a um congelamento a uma temperatura de -12°C para poder inativar os cistos teciduais.

Já Silva et al. (2007) em seu estudo com felídeos em cativeiro no Brasil recomenda que a carne seja mantida a uma temperatura de -12°C por um período acima de sete dias, reduzindo a exposição de contaminação com os cistos.

No que diz respeito ao tratamento a toxoplasmose poder ser tratada tanto no homem quanto nos animais com medicamentos adequados para controlar a progressão da doença, mas a necessidade e o tempo vão depender do estado imune do indivíduo e os órgãos afetados (SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 1999). Alguns princípios ativos são recomendados na literatura como à clindamicina no

caso dos felinos na dose de 25-50 mg/kg por dia em doses divididas por via oral ou intramuscular a cada 8-12h durante 10 dias (DUBEY; PROWELL, 2013).



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Determinar a frequência da infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos da microrregião Ilhéus-Itabuna, no estado da Bahia e analisar os fatores associados à infecção.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

-Determinar a prevalência da infecção por *T. gondii* em gatos domésticos na microrregião de estudo.

-Determinar os fatores associados à infecção nos gatos.

-Determinar se há diferenças na frequência de infecção em gatos domiciliados e errantes.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 LOCAL DE ESTUDO, SELEÇÃO DOS ANIMAIS**

O estudo foi realizado nas cidades de Ilhéus e Itabuna (latitude 14°47'S; longitude 39°02'W e latitude 14°47'S; longitude 39°16'W, respectivamente) inseridas na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia. A microrregião de Ilhéus-Itabuna pertence à mesorregião Sul Baiano e é a microrregião da Bahia que possui o maior número de municípios, sendo 41 no total, com área de 21.308,944km<sup>2</sup> (IBGE, 2010). As cidades apresentam uma população humana de aproximadamente 473.000 habitantes, considerando a proporção de 1:16 entre população humana e felina pelos critérios da Organização Mundial de Saúde, a população estimada felina é de 29563 animais. Desta forma com uma frequência esperada de 50%, erro tolerável de 7% e intervalo de confiança de 95% o número mínimo de animais para compor o estudo foi de 194. O projeto obedeceu aos princípios de bioética e bem estar do animal, estabelecido pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA-UESC), recebendo o número de protocolo 011/12.

### **4.2 COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

Coletou-se por conveniência 231 animais; duzentas e uma amostras de animais heterogêneos em idade, sexo e raça no período de fevereiro de 2012 a abril de 2013 e armazenadas no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Santa Cruz. Entre fevereiro a agosto de 2014 foram coletadas as amostras de 30 animais errantes heterogêneos provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de ambos os municípios. Foram colhidas aproximadamente 4 mL de sangue por punção venosa da veia jugular externa de cada animal, utilizando-se agulhas descartáveis (25x7), sendo 1 mL acondicionados em tubos com EDTA a 11% para extração do DNA e 2 mL em tubos sem anticoagulante para obtenção do soro. Os tubos sem anticoagulante foram centrifugados a 2000g durante 10 minutos e após esse tempo o mesmo foi

separado por aspiração e acondicionado em tubos tipo *ependorf* e armazenados em freezer a -20°C para realização dos testes sorológicos.

### 4.3 COLETA DOS DADOS

Os dados referentes às características dos animais e condições de vida foram obtidos através de uma entrevista semiestruturada (Apêndice A) realizada com os proprietários para que pudessem ser analisadas variáveis associadas ao agente.

### 4.4 SOROLOGIA

Para realização da sorologia para pesquisa de anticorpos contra *T. gondii* foi utilizada Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), considerando o ponto de 1:64 (PINTO et al., 2009; ROSA et al., 2010). Para a pesquisa de anticorpos contra *N. caninum* foi utilizado como ponto de corte 1:50 (SOUSA et al., 2014; MENESES et al., 2014). As lâminas para *T. gondii* foram sensibilizadas com taquizoítos da cepa RH e para *N. caninum* foram sensibilizadas com taquizoítos da cepa NC-1, as lâminas foram fixadas em formol a 10% e provenientes da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus Jaboticabal. Foi utilizado conjugado anti IgG felino Sigma (Anti-Cat IgG – F4262, Sigma-Aldrich ®) na diluição de 1:128. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio binocular com sistema de epifluorescência (OLYMPUS, BX 51) e aumento de 400x. O protocolo de realização da RIFI encontra-se no (Anexo A).

Foi considerada positiva a reação com completa fluorescência na periferia dos taquizoítos. Os controles (positivo e negativo) foram gentilmente cedidos pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Rosângela Zacarias Machado do Departamento de Patologia, FCAV-UNESP/Jaboticabal.

### 4.5 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO

O sangue total foi mantido a -20°C até o momento da extração do DNA genômico utilizando um kit comercial QIAamp DNA Blood Mini (Qiagen ®) seguindo

o protocolo recomendado pelo fabricante (Anexo B). Após a extração as amostras foram submetidas à espectrofotometria (NanoDrop®) para quantificar o DNA obtido e logo em seguida foram armazenados em freezer a -20°C até a realização da reação em cadeia de polimerase (PCR).

#### 4.6 REALIZAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

Todas as amostras foram submetidas à PCRs para FIV. As amostras que apresentaram resultado negativo foram submetidas a uma reação utilizando oligonucleotídeos específicos para o gene da enzima GAPDH (gliceraldeído-3fosfato desidrogenase), afim de se verificar a integridade do DNA e a presença de inibidores da PCR. Na Tabela 3 estão listadas as sequências dos oligonucleotídeos utilizados para cada PCR. Os controles positivos para FIV foram gentilmente cedidos pelo Prof. João Pessoa Araújo Júnior (Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP-Botucatu, São Paulo). A água ultra pura foi utilizada como controle negativo para verificar possíveis contaminações dos reagentes.

**Tabela 3.** Primers utilizados nas PCRs para FIV e GAPDH. Descrito a sequência de oligonucleotídeos, a região de origem no DNA pró-viral e o tamanho do produto amplificado.

Reação	Sequência 5'- 3'	Região	Produto	Referência
<b>FIV</b>				
A2	AAT ATG ACT GTA TCT ACT GC	<i>gag</i>	329pb	Hohdatsu et al., 1998
S2	TTT TCT TCT AGA GTA CTT TCT GG	<i>gag</i>		Hohdatsu et al., 1998
NS	TAT TCA AAC AGT AAA TGG AG	<i>gag</i>		Hohdatsu et al., 1998
NA	CTG CTT GTT GTT CTT GAG TT	<i>gag</i>		Hohdatsu et al., 1998
<b>GAPDH</b>				
GAPDH F	CCT TCA TTG ACC TCA ACT ACAT		400pb	Birkenheyer et al., 2003
GAPDH R	CCA AAG TTG TCA TGG ATG ACC			Birkenheyer et al., 2003

#### 4.6.1 Reação em cadeia da polimerase para detecção do DNA pró-viral do FIV

Sequências de oligonucleótidos específicos do gene *gag* do FIV foram utilizados na realização da Nested-PCR para identificação do DNA pró-viral, gerando um produto de 329pb (HOHDATSU et al., 1998). As duas reações com volume final de 25µL foram compostas por: 10x tampão de PCR; 2,0mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,2mM de cada dNTP(dATP, dGTP, dCTP, dTTP); 1µM de cada oligonucleotídeo iniciador; 1,25 U de Taq DNA polimerase I).

Na primeira reação foi adicionado 5µL do DNA da amostra a ser testada e 2µL do produto dessa reação foi adicionada a segunda reação para amplificação. A água ultra pura estéril foi utilizada para completar o volume da reação. Ambas as reações foram colocadas no termociclador (Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler) utilizando o mesmo protocolo de amplificação com temperatura inicial de 95°C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos a 95°C por 45 segundos, 58°C por 45 segundos e 72°C por 45 segundos, extensão final a 72°C por 5 minutos, protocolo segundo Marçola, (2011).

#### 4.6.2 Reação em cadeia da polimerase para o GAPDH

As amostras negativas foram submetidas à PCR para o gene da enzima GAPDH (Gliceraldeído-3fosfato Desidrogenase), gerando um produto de 400pb. A reação com volume final de 25µL foi composta por 10x de tampão de PCR; 2,0mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,2mM de cada dNTPs(dATP, dGTP, dCTP, dTTP); 1µM de cada oligonucleotídeo, 1,25U de Taq DNA polimerase a 5U/µL (Invitrogen®, São Paulo, Brasil) e 5µL de DNA da amostra a ser testada (BIRKENHEYER et al., 2003). O protocolo de amplificação foi composto de uma etapa inicial de 95°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos a 94°C por 30 segundos, 52°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, com extensão final de 72°C por 5 minutos.

#### 4.7 REVELAÇÃO DOS PRODUTOS DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

Os produtos amplificados das PCRs para FIV e GAPDH foram armazenados a 4°C até o momento da eletroforese em gel de agarose a 2% em solução de corrida TE (40 mM Tris-Acetato, 2mM EDTA, pH 8), corado posteriormente com brometo de etídio (0,5µg/mL). Foi aplicado em cada canaleta 10 µL de cada produto, acrescidos de 2 µL de tampão de amostra (glicerol 40% e azul de bromofenol 0,02%).

A corrida foi realizada a 75 V, 150 mA durante 30 min. O tamanho dos produtos amplificados foram estimados utilizando-se um padrão de pares de base em cada gel de corrida. A visualização dos produtos amplificados foi realizada em transiluminador ultravioleta (UV) L.PIX (Loccus Biotecnologia) e fotografados por um analisador de imagens acoplado.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos da entrevista e o resultado da sorologia para *T. gondii* e Nested-PCR para a FIV foram tabulados e analisados com o programa EPIINFO versão 3.5.2, onde foi feito o qui-quadrado com correção de Yates para cada variável. A chance de ocorrer (OR) da análise bivariada foi calculada com medidas de associação e intervalo de confiança de 95%. Foram consideradas todas as variáveis com plausibilidade biológica para comporem o modelo preliminar da regressão logística não condicional. Foi usado o programa BIOSTAT 5.0 para determinar a colinearidade das variáveis selecionadas através da correlação de Spearman ( $p \leq 0,2$ ) (Apêndice B) e uma vez detectada a colinearidade entre variáveis uma delas foi excluída do estudo. Após, com auxílio do programa EPIINFO versão 3.5.2, construiu-se o modelo final através da entrada e saída das variáveis (sistema *backward*).

## 5 RESULTADOS

Dentre as amostras dos gatos domiciliados analisadas, encontrou-se uma positividade para *T. gondii* de 44,3% (89/201 intervalo de confiança [IC] 37,3% - 51,4%) e para as amostras provenientes do centro de controle de zoonoses (CCZ) a positividade foi de 53,3% (16/30, IC 34,3% - 71,7%). A titulação dos animais domiciliados variaram de 1:64 a 1:2048 e dos animais do CCZ foi de 1:256 a 1:1024 (Tabela 4).

Já a positividade encontrada para *N. caninum* foi de 21,4% (43/201, IC 15,9% - 27,7%) e dos animais do CCZ de 23,3% (7/30, IC 9,9% - 42,3%). Os animais domiciliados e do CCZ foram titulados e os títulos variaram de 1:50 a 1:200 e de 1:50 a 1:100, respectivamente (Tabela 5). A co-positividade para ambos os parasitas encontrada nos animais do CCZ foi de 37,5% (6/30) e nos animais domiciliados foi de 23,6% (21/201).

**Tabela 4-** Titulação dos gatos domiciliados e do Centro de Controle de Zoonoses pertencentes à microrregião Ilhéus-Itabuna soropositivos para *Toxoplasma gondii*.

	Titulação						Total de animais
	64	128	256	512	1024	2048	
Gatos domiciliados	3 (3,4%)	12 (13,5%)	28 (31,5%)	24 (27%)	19 (21,3%)	3 (3,4%)	89
Gatos do CCZ	-	-	6 (37,5%)	9 (56,3%)	1 (6,3%)	-	16

**Tabela 5-** Titulação dos gatos domiciliados e do Centro de Controle de Zoonoses pertencentes à microrregião Ilhéus-Itabuna soropositivos para *Neospora caninum*.

	Titulação			Total de animais
	50	100	200	
Gatos domiciliados	26 (60,5%)	9 (20,9%)	8 (18,6%)	<b>43</b>
Gatos do CCZ	5 (71,4%)	2 (28,6%)	-	<b>7</b>

Os fatores com plausibilidade biológica estudada não apresentaram colinearidade, por isso todas foram mantidas na composição do modelo preliminar da regressão logística não-condicional para *T. gondii* (Tabela 8). Embora idade não tenha sido significativa, foi uma variável importante no estudo, pois se observou que muitos animais com menos de 1 ano de idade apresentavam-se positivos para *T. gondii*. Os resultados também demonstraram que o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) apresentou uma associação com os gatos positivos para *T. gondii* onde 75% (9/12) dos animais FIV positivos estão infectados com *T. gondii* ( $p \leq 0,05$ ) e desses apenas 3 animais de um total de 9 coinfectados apresentaram títulos maiores ou iguais a 512 para *T. gondii*. O modelo final da regressão logística indicou a variável periurbano como fator de risco para infecção por *T. gondii* (Tabela 9). Para *N. caninum* nenhuma variável foi significativa na regressão logística não-condicional.



**Tabela 6-** Fatores com plausibilidade biológica associada à infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

Variáveis	Gatos				Odds ratio CI 95%	p
	Positivos (89)		Negativos (112)			
	n	%	n	%		
<b>IDADE</b>						
Maior ou igual 1 ano	71	45,2	86	54,8	1,19 (0,61 - 2,35)	0,74
Menor que 1 ano	18	40,9	26	59,1		
<b>SEXO</b>						
Macho	51	47,7	56	52,3	1,34 (0,76 - 2,34)	0,37
Fêmea	38	40,4	56	59,6		
<b>TEM RAÇA DEFINIDA</b>						
SIM	5	38,5	8	61,5	0,76 (0,23 - 2,40)	0,85
NÃO	84	45,2	102	54,8		
<b>CASTRADO</b>						
SIM	18	40	27	60	0,75 (0,38 - 1,48)	0,51
NÃO	70	47	79	53		
<b>MORA EM APARTAMENTO</b>						
SIM	3	25	9	75	0,39 (0,10 - 1,52)	0,14*
NÃO	86	45,5	103	54,5		
<b>ACESSO À RUA</b>						
SIM	59	44,7	73	55,3	0,99 (0,53 - 1,82)	0,90
NÃO	27	45	33	55		
<b>COMIDA CASEIRA</b>						
SIM	73	44,5	91	55,5	1,12 (0,54 - 2,33)	0,89
NÃO	15	41,7	21	58,3		
<b>PERIURBANO</b>						
SIM	35	54,7	29	45,3	1,85 (1,01 - 3,37)	0,06
NÃO	54	39,4	83	60,6		
<b>CONTATO COM OUTROS GATOS</b>						
SIM	50	45	61	55	1,10 (0,62 - 1,96)	0,86
NÃO	35	42,7	47	57,3		
<b>CIDADE</b>						
ITB	24	34,8	45	65,2	0,55 (0,30 - 1,00)	0,07
IOS	65	49,2	67	50,8		

\* p= Exato de Fisher

**Tabela 7-** Fatores com plausibilidade biológica associada à infecção por *Neospora caninum* em gatos, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

Variáveis	Gatos				Odds ratio CI 95%	p
	Positivos (43)		Negativos (158)			
	n	%	n	%		
<b>IDADE</b>						
Maior ou igual 1 ano	35	22,3	122	77,7	1,29 (0,55 – 3,03)	0,70
Menor que 1 ano	8	18,2	36	81,8		
<b>SEXO</b>						
Macho	24	22,4	83	77,6	1,14 (0,58 - 2,25)	0,83
Fêmea	19	20,2	75	79,8		
<b>TEM RAÇA DEFINIDA</b>						
SIM	3	23,1	10	76,9	1,09 (0,29 - 4,17)	0,56*
NÃO	40	21,5	146	78,5		
<b>CASTRADO</b>						
SIM	10	22,2	35	77,8	1,09 (0,49 - 2,44)	0,99
NÃO	31	20,8	118	79,2		
<b>MORA EM APARTAMENTO</b>						
SIM	4	33,3	8	66,7	1,92 (0,55 – 6,71)	0,24*
NÃO	39	20,6	150	79,4		
<b>ACESSO À RUA</b>						
SIM	25	18,9	107	81,1	0,70 (0,34 - 1,45)	0,44
NÃO	15	25	45	75		
<b>COMIDA CASEIRA</b>						
SIM	37	22,6	127	77,4	1,46 (0,56 - 3,77)	0,58
NÃO	6	16,7	30	83,3		
<b>PERIURBANO</b>						
SIM	17	26,6	47	73,4	1,54 (0,77 - 3,11)	0,30
NÃO	26	19	111	81		
<b>CONTATO COM OUTROS GATOS</b>						
SIM	25	22,5	86	77,5	1,20 (0,59 - 2,42)	0,74
NÃO	16	19,5	66	80,5		
<b>CIDADE</b>						
ITB	11	15,9	58	84,1	0,59 (0,28 - 1,26)	0,24
IOS	32	24,2	100	75,8		

\* p= Exato de Fisher

**Tabela 8-** Modelo preliminar da regressão logística não condicional dos fatores associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

Variáveis	Chances de ocorrer	IC (95%)	Valor de <i>p</i>
Acesso à rua	0,9	0,44-1,82	0,77
Castrado	0,81	0,35-1,88	0,63
Cidade (ITB/IOS)	0,6	0,28-1,25	0,17
Comida caseira	0,95	0,40-2,30	0,92
Sexo	1,1	0,58-1,95	0,85
Idade ≥ 1	0,82	0,44-1,52	0,53
Mora em apartamento	0,26	0,05-1,33	0,11
Periurbano	1,28	0,61-2,71	0,52
Tem raça definida	0,54	0,13-2,32	0,41
Contato com outros gatos	1,1	0,58-2,1	0,77

likelihood=10,9160; p=0,3641

**Tabela 9-** Modelo final da regressão logística não-condicional dos fatores associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia, Brasil.

Variáveis	Chances de ocorrer	IC (95%)	Valor de <i>p</i>
Periurbano	1,86	1,01-3,38	0,0434

likelihood=4,1111; p=0,0426

## 6 DISCUSSÃO

A elevada prevalência para *T. gondii* observada nos animais do estudo caracteriza a região como endêmica e evidencia uma facilidade de exposição do hospedeiro definitivo ao agente, possivelmente em função da presença de oocistos no ambiente ou hospedeiros intermediários infectados passíveis de predação. No presente estudo as prevalências de ambas as populações (domiciliados e errantes) não diferiram significativamente para *T. gondii*, discordando de estudos realizados por Gauss et al. (2003), Hornok et al. (2008), Lopes et al. (2008) que demonstram diferenças nas prevalências entre este grupo de animais.

Uma vez que ao se infectarem os gatos tendem a eliminar oocistos, este resultado demonstra que em algum momento da sua vida a maioria dos gatos do presente estudo eliminaram oocistos no ambiente levando a contaminação ambiental e infecção de outros hospedeiros intermediários da região, como observado em suínos (Bezerra et al., 2009), bovinos (Spagnol et al., 2009) e ovinos (Guimarães et al., 2013) trazendo grande risco a saúde pública, seja pela ingestão direta de oocistos ou de cistos teciduais, presentes em carne crua ou mal cozida.

Em gatos domiciliados a prevalência para *T. gondii* é bastante variada e essa variação pode ser por diversos fatores como origem da população, ponto de corte utilizado, técnica sorológica e número da população estudada (PENA et al 2006; LOPES et al. 2008). Tal afirmação justifica o fato de estudos com prevalências maiores em relação a este como demonstrado por Cavalcante et al. (2006) com ponto de corte 1:25 encontraram 87,3%, Garcia et al. (1999) com ponto de corte 1:16 encontraram 73% e Haddadzadeh et al. (2006) com ponto de corte 1:32 encontram 63%. Todos esses trabalhos foram realizados com ponto de corte menores o que levaria as essas diferenças nas prevalências.

A frequência encontrada no estudo para *N. caninum* nos gatos domiciliados e errantes foram similar aos trabalhos realizados por Bresciani et al. (2007) na cidade de Araçatuba, São Paulo, Sousa et al. (2014) no Mato Grosso do Sul e por Braga et al. (2012) em São Luís, Maranhão. Entretanto mais estudos no Brasil são necessários para melhor esclarecer o papel dos gatos domésticos na epidemiologia do *N. caninum*.

A co-infecção de *T. gondii* e *N. caninum* nos gatos domiciliados e errantes encontrada no nosso estudo também corrobora com os trabalhos de Bresciani et al (2007), Braga et al (2012) e Souza et al (2014). Isso pode estar associado a infecção por oocistos, mas principalmente associado ao hábito dos gatos que capturando aves ou pequenos roedores, se infectem simultaneamente com esses parasitas, uma vez que foi demonstrado que ratos sinantrópicos podem estar simultaneamente albergar ambos parasitos (HUANG et al., 2004).

Diversos estudos tem apontado a idade como um fator de risco para *T. gondii* entre eles Langoni et al. (2001), Craeye et al. (2008), Garcia et al. (1999), o que não corrobora com nossos achados provavelmente pela precocidade da exposição ao agente onde 40,9% (18/44) dos gatos domiciliados como idade inferior a um ano já se encontram positivos. Weigel et al. (1995) pesquisando fatores de risco para infecção de *T. gondii* em 47 granjas de suínos em Illinois, Estados Unidos encontraram como fatores de risco a infecção em gatos jovens e a presença de roedores já que esses animais poderiam caçar e iniciar o carnivorismo se infectando e eliminando oocistos.

A região periurbana foi um fator de risco no nosso estudo, pois os gatos periurbanos tiveram positividade de 53,8% (35/65) demonstrando como esse ambiente propicia com mais facilidade a infecção destes animais. Esta maior facilidade de infecção é comprovada pelo fato que a maioria dos gatos que se infectam com menos de 1 ano são pertencentes a área periurbana, entretanto embora o habitat seja um importante fator fica o registro que 39,7% (54/137) de animais positivos encontravam-se no ambiente urbano, ou seja, embora menor que o ambiente periurbano este resultado é maior que o observado em área urbanas de diversos estudos (HORNOK et al., 2008; CARLETTI et al., 2002; GAUSS et al., 2003).

O Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) não é um fator de risco, mas demonstra uma forte associação como os animais positivos para *T. gondii*. Esse vírus tem como forma predominante de transmissão a saliva e uma vez infectado o animal pode desenvolver desordens hematológicas e deficiência imunológica, tornando-se susceptível a infecções secundárias.

Na literatura existem relatos de resultados de experimentos que indicam a possibilidade do gato voltar a eliminar oocistos em condições especiais levando a contaminação ambiental e promovendo a infecção dos hospedeiros intermediários

(WITT et al., 1989, VENTURINI et al., 1997), assim como ocorre em pessoas, com a imunidade comprometida, através da reativação da infecção por *T. gondii* que estava latente (SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 2009).

Lucas et al. (1998) estudaram a ocorrência de anticorpos contra-*T.gondii* em gatos infectados naturalmente pelo FIV e encontraram uma forte associação entre as infecções, mas não conseguiram determinar se o vírus deixava os animais mais susceptíveis ao *T. gondii* potencializando uma infecção primária ou se promovia a reativação dos cistos teciduais. Essa mesma associação foi encontrada em pesquisas realizada por Lopes et al. (2008) em gatos no nordeste de Portugal e por Witt et al. (1989) em Baltimore, que afirmaram que a imunossupressão induzida pelo FIV facilitaria a infecção por *T. gondii* em gatos adultos. Entretanto no presente estudo os animais positivos para FIV eram assintomáticos para *T. gondii* discordando dos achados desses autores.

Ao analisar a resposta imunológica dos gatos co-infectados para FIV e *T. gondii*, Witt et al. (1989) demonstraram que apresentavam altos títulos de anticorpos quando comparados aos animais apenas infectados por *T. gondii*. Esses resultados não foram observados no presente estudo onde animais FIV e Toxoplasma positivos não apresentaram elevados títulos de anticorpos, como também observado por O'Neil et al. (1991) estes resultados sugerem que a infecção do FIV ainda possa estar latente nos animais positivos do estudo.

## 7 CONCLUSÕES

Após a análise dos dados pode-se concluir que:

Há infecção dos gatos por *T. gondii* e *N. caninum* na microrregião Ilhéus-Itabuna.

A alta positividade encontrada para *T. gondii* nos gatos deste estudo indica a presença de contaminação ambiental gerando problemas na produção animal e na saúde pública.

O ambiente periurbano foi associado à infecção por *T. gondii* já que nesse ambiente os gatos tem mais acesso à caça e contato com outros gatos.

Animais concomitantemente infectados com FIV e *Toxoplasma gondii* são portadores assintomáticos da infecção.

## 8 REFERÊNCIAS

AFONSO, E.; THULLIEZ, P.; GILOT-FROMONT, E. Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*), **International Journal for Parasitology**, v. 36, p. 1373–1382, 2006.

ARAÚJO, W. N.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Toxoplasmose: uma zoonose-realidades e risco. **Revista Cães e Gatos**, n. 79, ano 13, nov.- dez.1998.

ARUNVIPAS, P.; JITTAPALAPONG, S.; INPANKAEW, T.; PINYOPANUWAT, N.; CHIMNOI, W.; MARUYAMA, S. . Seroprevalence and risk factors influenced transmission of *Toxoplasma gondii* in dogs and cats in dairy farms in Western Thailand, **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 7, p. 591-595, 2013.

BASTOS, B. F.; BRENER, B.; GHERSONY, L.; WILLI, L.; LABHARTE, N.; PEREIRA, C.; MENDES DE ALMEIDA, F. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) and retroviral status of client-owned pet cats (*Felis catus*, linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Instituto Medicina Tropical São Paulo**, v. 56, n. 3, p. 201-203, maio-jun., 2014.

BEZERRA, R. A.; PARANHOS, E. B.; DEL'ARCO, A. E.; ALBUQUERQUE, G. R. Detecção de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 78-80, jul.-set. 2009.

BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Development and Evaluation of a Seminested PCR for Detection and Differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) and *B. canis* DNA in Canine Blood Samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 4172–4177, 2003.

BITTENCOURT, L. H. F. B.; ANDRADE, A. C.; GODOI, N.; SOSTISSO, D. R.; LIBARDI, K. A.; ZABOTT, M. V. Prevalência do *Toxoplasma gondii* em gatos frequentadores de clínicas e hospitais veterinários de Cascavel, Paraná. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 18., 2014, Gramado, Brasil. **Anais...Gramado**, 2014.

BRAGA, M. S. C. O.; ANDRÉ, M. R.; JUSI, M. M. G.; FRESCHI, C. R.; TEIXEIRA, M. C. A.; MACHADO, R. Z. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 107-111, 2012.

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

BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 3, p. 607-623, 2000.



CARLETTI, R. T.; CONTENTE, A. P. A.; NAVARRO, I. T.; PRUDENCIO, L. B.; TSUTSUI, V. S.; MARANA, E. R. M.; ROMÃO, G. O. Surto de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí - PR, Brasil: sorologia em animais domésticos. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 19., 2002, Gramado, Brasil. **Anais...Gramado**, p.60, 2002.

CAVALCANTE, G. T.; AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D.; DUBEY, J. P.; RUIZ, V. L. A.; DIAS, R. A.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Cats and Pigs From Rural Western Amazon, Brazil. **Journal Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 863–864, 2006.

CERRO, L. T.; CHÁVEZ, A. V.; CASAS, E. A.; SUÁREZ, F. A.; RUBIO, A. V. Frecuencia de *Toxoplasma gondii* en gatos de Lima Metropolitana y concordancia entre las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta. **Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú**, n. 20, v. 2, p. 285-290, 2009.

COELHO, W. M. D.; AMARANTE, A. F. T.; APOLINÁRIO, J. C.; COELHO, N.M.D.; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; BRESCIANI, K. D. S. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Leishmania spp.* infections and risk factors for cats from Brazil. **Parasitology Research**, n. 109, p. 1009-1013, 2011.

CHIARI, C. A.; NEVES, D. P. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Memória Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 3, p. 337-340, jul./set.1984.

CRAEYE, S.; FRANCAERT, A.; CHABAUTY, J.; VRIENDT, V.; GUCHT, S. V.; LEROUX, I.; JONGERT, E. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Belgian house cats, **Veterinary Parasitology**, v. 157, p. 128–132, 2008.

DABRITZ, H. A.; CONRAD, P. A. Cats and *Toxoplasma*: Implications for Public Health. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, p. 34–52, 2010.

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 microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1133-1137, jul./ago. 2004.

DEKSNE, G.; PETRUSEVICA, A.; KIRJUSINA M. Seroprevalence and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from urban areas in Latvia. **Journal Parasitology**, v. 99, n.1, p. 48–50, 2013.

DUBEY, J.P. Taxonomy of Sarcocystis and other Coccidia of cats and dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 170, n. 8, p. 778-782, 1977.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 189, n. 2, p. 116-170, 1986.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 50, n. 9, p. 1578-1579, set., 1989.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LIPSCOMB, T. P. Neosporosis in Cats. **Veterinary Pathology**, n. 27, p. 335-339, 1990.

DUBEY, J. P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v.64, n. 1-2, p. 65-70, ago., 1996.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p..267-299, 1998.

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

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; HILL, D.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O. C. H.; SILVA, J. C. R; OLIVEIRA-CAMARGO, M. C.; GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil. **Journal Parasitology**, v. 88, n. 6, p. 1251-1252, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2003.

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

DUBEY, J. P.; ZHU, X. Q.; SUNDAR, N.; ZHANG, H.; KWOK, O.C.H.; SU, C. Genetic and biologic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates of cats from China. **Veterinary Parasitology**, n. 145, p. 352–356, 2007.

DUBEY, J. P. The History of *Toxoplasma gondii*—The First 100 Years. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 467–475, 2008.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dog. **Veterinary Clinical Small Animal**, v.39, p.1009-1034, 2009.

DUBEY, J. P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 39, p. 877–882, 2009.

DUBEY, J. P.; BHATIA, C. R.; LAPPIN, M. R.; FERREIRA, L. R.; THORN, A.; KWOK, O. C. H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Bartonella spp.* antibodies in cats from Pennsylvania. **Journal Parasitology**, n. 95, v. 3, p.578–580, 2009.

DUBEY, J. P.; DARRINGTON, C.; TIAO, N.; FERREIRA, L. R.; CHOUDHARY, S.; MOLLA, B.; SAVILLE, W. J. A.; TILAHUN, G.; KWOK, O. C. H.; GEBREYES, W. A.

Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from tissues and feces of cats from Addis Ababa, Ethiopia. **Journal Parasitology**, v. 99, n.1, p. 56–58, 2013.

DUBEY, J. P.; PROWELL, M. Ante-Mortem Diagnosis, Diarrhea, Oocyst Shedding, Treatment, Isolation, and Genetic Typing of *Toxoplasma gondii* Associated with Clinical Toxoplasmosis in a Naturally Infected Cat. **Journal Parasitology**, v. 99, n. 1, p. 158-160, 2013.

FIALHO, C. G.; TEIXEIRA, M. C.; ARAUJO, F. A. P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 1, p. 1-23, 2009.

FERDELE, M.; SOUZA, S. F.; MEDEIROS, S. L.; BELFORT, A. S.; CORDEIRO, A. L. L.; MOURA, A. B.; SARTOR, A. A.; OSSANI, R. A. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados no município de Rio Branco, Acre. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 18., 2014, Gramado, Brasil. **Anais...Gramado**, 2014.

FERGUSON, D. J. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memória Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 133-148, mar. 2009.

FERRARONI, J. J.; MARZOCHI, M. C. A. Prevalência da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em animais domésticos, silvestres e grupamentos humanos da Amazônia. **Memória Instituto Oswaldo Cruz**, v. 75, n. 1-2, p. 99-109, 1980.

FERREIRA, A. M.; COSTA, A. P. M.; MONTANO, P. Y.; DITTRICH, R. L.; MAFFEZZOLLI, G. Ocorrência de toxoplasmose e neosporose em gatos domiciliados no Paraná. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 18., 2014, Gramado, Brasil. **Anais...Gramado**, 2014.

FERROGLIO, E.; GUIZO, P.; PASINO, M.; ACCOSSATO, A.; TRISCIUOGLIO, A. Antibodies to *Neospora caninum* in stray cats from north Italy. **Veterinary Parasitology**, n.131, p. 31–34, 2005.

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

GARCÍA-MARQUÉZ, L. J.; GUTIÉRREZ-DÍAZ, M. A.; CORREA, D.; LUNA-PASTÉN, H.; PALMA, J. M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies and the Relation to Risk Factors in Cats of Colima, Mexico, **Journal Parasitology**, n. 93, v. 6, p. 1527–1528, 2007.

GAUSS, C. B. L.; ALMERÍA, S.; A. ORTUÑO; GARCIA, F.; DUBEY, J. P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from Barcelona, Spain. **Journal Parasitology**, n. 89, v. 5, p. 1067–1068, 2003.

- GUIMARÃES, L. A.; BEZERRA, R. A.; ROCHA D. S.; ALBUQUERQUE, G. R. Prevalence and risk factors associated with anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sheep from Bahia state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 220-224, abr.-jun. 2013.
- HADDADZADEH, H. R. ; KHAZRAIINIA , P.; ASLANI, M.; REZAEIAN, M.; JAMSHIDI, S.; TAHERI, M.; BAHONAR, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in stray and household cats in Tehran. **Veterinary Parasitology**, n. 138, p. 211–216, 2006.
- HAMINIDEJAT, H.; MOSALANEJAD, B.; AVIZEH, R.; JALALI, M. H. R.; GHORBANPOUR, M.; NAMAVARI, M. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibody prevalence in Ahvaz feral cats, Iran. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 217-222, 2011.
- HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 8, p. 634-640, 2002.
- HOHDATSU, T; MOTOKAWA, K.; USAMI, M.; AMIOKA, M.; OKADA, S.; KOYAMA, H. Genetic subtyping and epidemiological study of feline immunodeficiency virus by nested polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of the *gag* gene. **Journal of Virological Methods**, v. 70, p. 107–111, 1998.
- HORNOK, S.; EDELHOFER, R.; JOACHIM, A.; FRAKAS, R.; BERTA, K.; RÉPÁSI, A.; LAKATOS, B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection of cats in Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, n. 56, v. 1, p. 81–88, 2008.
- HUANG, C.C.; YANG, C. H.; WATANABE, Y.; LIAO, Y. K.; OOI, H. K. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). **Veterinary Research**, n. 35, p. 283-290, 2004.
- IBGE, Censo 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ba>>. Acesso em: 5 jul. 2014.
- INNES, E. A. A Brief History and Overview of *Toxoplasma gondii*. **Zoonoses Public Health**, v. 57, p. 1–7, 2010.
- JONES, J. L.; DARGELAS, V.; ROBERTS, J.; PRESS, C.; REMINGTON, J. S.; MONTOYA, J. G. Risk Factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, p. 878–884, 2009.
- JÚNIOR, G. N.; NARDI, K. F.; COLENCI, R.; SANTOS, E. L. B. Toxoplasmose: aspectos de saúde pública e importância ao agronegócio. **Tékhnē e Lógos**, Botucatu, v. 3, n.1, mar. 2012.
- KULASENA, V. A.; RAJAPAKSE, V. J.; DUBEY, J. P.; DAYAWANSA, P. N.; PREMAWANSA S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombo, Sri Lanka. **Journal Parasitology**, v. 97, n.1, p. 152, 2011.

LANGONI, H.; SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; CUNHA, E. L. P.; CUTOLO, A. A. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 243-244, 2001.

LOPES, A. P.; CARDOSO, L.; RODRIGUES, M. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. **Veterinary Parasitology**, n. 155, p.184–189, 2008.

LUCAS, S. R. R.; HAGIWARA, M. K.; RECHE JUNIOR, A.; GERMANO, P. M. L. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em gatos infectados naturalmente pelo vírus da imunodeficiência dos felinos. . **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 41-45, 1998.

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

MARÇOLA, T. G. **Estudo da avaliação laboratorial e ocorrência da infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e co-infecções em felinos domésticos de diferentes localidades do Distrito Federal**. 2011. 80f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal)- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2011.

MARQUES, J. M.; ISBRECHT, F. B.; LUCAS, T. M.; GUERRA, I. M. P.; DALMOLIN, A.; SILVA, R. C.; LANGONI, H.; SILVA, A. V. Detecção de anticorpos anti - *Toxoplasma gondii* em animais de uma comunidade rural do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 30, n. 4, p. 889-898, out.-dez., 2009.

MENESES, I. D. S.; ANDRADE M. R.; UZEDA, R. S.; BITTENCOURT, M. V.; LINDSAY, D. S.; GONDIM, L. F. P. Frequency of antibodies against *Sarcocystis neurona* and *Neospora caninum* in domestic cats in the state of Bahia, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 4, p. 526-529, out.-dez. 2014

MCCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, n. 28, p.1473-1478, 1998.

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

MONTEIRO, K. C.; PASQUALI, A. K. S.; FERREIRA, F. P.; PETRUSKE, J.; CALDART, E. T.; PASCHOAL, A. T. P.; SOUZA, M.; FREIRE, R. L.; HILST, C. L. S.; NAVARRO, I. T. Prevalência *T. gondii* em cães e gatos atendidos no pcn da Universidade Estadual de Londrina. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 18., 2014, Gramado, Brasil. **Anais...** Gramado, 2014.

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

NAVARRO, I. T.; GARCIA, J. L.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, 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.

NEGRI, D.; CIRILO, M. B.; SALVARANI, R. S.; NEVES, M. F. Toxoplasmose em cães e gatos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano 6, n. 11, jul. 2008.

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

O'NEIL, S.A.; LAPPIN, M.R.; REIF, J.S.; MARKS, A.; GREENE, C.E. Clinical and epidemiological aspects of feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* coinfection in cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.27, n.2, p.211-20, 1991.

PENA, 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, p. 58–67, 2006.

PINTO, L. D.; ARAUJO, F. A. P.; STOBBS, N. S.; MARQUES, M. S. T. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.8, p.2464-2469, nov. 2009.

ROSA, L. D.; MOURA, A. B.; TREVISANI, N.; MEDEIROS, A. P.; SARTOR, A. A.; SOUZA, A. P.; BELLATO, V. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados no município de Lages, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 4, p. 268-269, out.-dez. 2010.

SABIN, A.B.; FELDMAN, H.A. Dyes as Microchemical Indicators of a New Immunity Phenomenon Affecting a Protozoon Parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, n. 2815, p. 660-663, 1948

SANTO, A. H.; PINHEIRO, C. E.; JORDAN, M. S. Causas básicas associadas de morte por Aids, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Saúde Pública**, v.34, n. 6, p. 581-588, 2000.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de

anticorpos anti-toxoplasma em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 7-11, jan./mar. 2002.

SILVA, J. C. R.; MARVULO, M. F. V.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, A.; ADANIA, C. CH; NETO, J. S. F. Risk factors associated with sero-positivity to *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, n. 78, p. 286–295, 2007.

SILVA, B. F.; SADOVSKY, A. D. I.; BARCELOS, A. O.; PAULA, B. Uma revisão sistemática sobre as formas de infecção pelo *Toxoplasma gondii*. **Natureza on line**, n. 5, v.2, p. 63-67, 2007. Disponível em:  
< <http://www.naturezaonline.com.br>>. Acesso em: 27 jul. 2014.

SOUSA, K. C. M.; HERRERA, H. M.; SANTOS, I. M. C.; DOMINGOS, I. H.; CAMPOS, J. B. V.; NEVES, H. H.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Detecção sorológica de *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* e *Neospora caninum* em gatos de uma área endêmica para leishmaniose no Brasil, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, out.-dez., 2014.

SPAGNOL, F. H.; PARANHOS, E. B.; OLIVEIRA, L. L. S.; MEDEIROS S. M.; LOPES, C. W. G.; ALBUQUERQUE, G. R. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos abatidos em matadouros do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 42-45, abr.-jun. 2009.

SPÓSITO FILHA , E.; OLIVEIRA , S. M. Toxoplasmose. **Biológico**, São Paulo, v.71, n.1, p.13-15, jan./jun., 2009.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 217-58, 2000.

THOMAS, F.; LAFFERTY, K. D.; BRODEUR, J.; ELGUERO, E.; GAUTHIER-CLERC, M.; MISSÉ, D. Incidence of adult brain cancers is higher in countries where the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* is common. **Biology Letters**, n. 8, p. 101–103, 2012.

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

VENTURINI, M. C.; CASTELLANO, M. C.; BACIGALUPE, D.; OLIVA, G.; UNZAGA, J. M.; RISSO, M. A.; ARIAS, D.; DI LORENZO, C.; VENTURINI, L. Coinfeccion con *Toxoplasma gondii* y virus de la inmunodeficiencia felina (FIV). *Parasitología al día*, v.21, n.3-4, jul. 1997.

WEIGEL, R. M.; DUBEY, J. P.; SIEGEL, A. M.; KITRON, U. D.; MANNELLI, A.; MITCHELL, M. A.; MATEUS-PINILLA, N. E.; THULLIEZ, P.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; TODD, K. S. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. **Journal Parasitology**, v. 81, n. 5, p. 736-741, 1995.

WEISS, L. M.; DUBEY, J. P. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. **International Journal for Parasitology**, n. 39, p. 895-901, 2009.

WITT, C. J.; MOENCH, T. R.; GITTELSON, A.M.; BISHOP, B. D.; CHILDS, J. E. Epidemiologic observations on feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* coinfection in cats in Baltimore, Md. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, n. 194, v. 2, p. 229-233, 1989.

YOUN, H.; CHO, M. R.; LIM, Y. S.; KIM, K. H.; BAE, B. K.; SHIM, K.; NAM, H. W. The prevalence of feline parasites in Suwon, Korea, **Korean Journal Veterinary Research**, v. 52, n. 2, p. 65-68, 2012.

ZEMENE, E.; YEWHALAW, D.; ABERA, S.; BELAY, T.; SAMUEL, A.; ZEYNUDI, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and associated risk factors among pregnant women in Jimma town, Southwestern Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, n. 12, p. 337, 2012.



## 9 ANEXOS

### Anexo A- Protocolo da Reação de Imunofluorescência- RIFI

Procedimentos para contagem de taquizoítos:

- Preencher a câmara de *Neubauer* com os taquizoítos.
- Realizar contagem em cinco dos 25 quadrantes centrais.
- Multiplicar o resultado por 50, o que corresponde à quantidade de taquizoítos por  $\mu\text{L}$ . O número ideal é de 1.500 – 2.000 taquizoítos/ $\mu\text{L}$  para preparo do antígeno.
- Diluir o material ressuspensão para uma concentração de 1.500 a 2.000 taquizoítos por  $\mu\text{L}$ .

Preparo das Lâminas:

- Adicionar 10  $\mu\text{L}$  do antígeno em cada poço da lâmina.
- Secar em estufa a 37°C por aproximadamente 30 minutos.
- Fixar em metanol por cinco minutos
- Acondicionar em lenço de papel e papel alumínio, armazenando a -20°C, até o momento do uso.

Execução da técnica de RIFI:

- Lavar as lâminas em PBS por 5 minutos.
- Secar as lâminas em temperatura ambiente ou estufa a 37°C (tempo = até secar).
- Diluir o soro, segundo seu ponto de corte (1:64 para *T. gondii*) e (1:50 para *N. caninum*)
- Adicionar 10  $\mu\text{L}$  da diluição das amostras de soro.
- Adicionar 10  $\mu\text{L}$  dos soros controles positivo e negativo.
- Incubar a 37°C por 30 minutos, em câmara úmida.
- Lavar as lâminas duas vezes com PBS por 5 minutos.
- Secar as lâminas a temperatura ambiente.
- Diluir o conjugado com FITC (isotiocianato de fluoresceína) em solução de PBS-Azul de Evans (0,5%), de acordo com o título determinado no Laboratório.
- Adicionar 10  $\mu\text{L}$  do conjugado diluído em cada poço e proteger da luz.
- Incubar a 37°C por 30 minutos, em câmara úmida, sempre protegendo da luz.
- Lavar as lâminas duas vezes com PBS por 5 minutos (protegendo da luz).
- Secar as lâminas a temperatura ambiente.
- Adicionar uma gota de glicerina entre os poços e cobrir com lamínula.
- Fazer a leitura em objetiva de 40x no microscópio com lâmpada de mercúrio de alta pressão USH102 e filtro de seleção de comprimento de onda de 450 nm.

**Anexo B- Protocolo de extração do DNA genômico**

- 1- Adicionar 500µl do Tampão AP1 para um microtubo de 1,5ml (fornecido).
- 2- Adicionar 200-250µl de sangue total com anticoagulante. Fechar a tampa do microtubo e misturar pelo vortex por 10 segundos.
- 3- Adicionar 100µl do Tampão AP2 e misturar no vortex em velocidade máxima por 10 segundos
- 4- Centrifugar a 12.000x g por 20 minutos em temperatura ambiente para a decantação de detritos celulares.
- 5- Colocar uma coluna de AxyPrep dentro de um microtubo de 2ml. Pipetar o sobrenadante clarificado obtido no passo 4 dentro da coluna de AxyPrep. Centrifugar a 12.000x g por 1 minuto.
- 6- Descartar o filtrado do microtubo de 2 ml. Colocar a coluna de AxyPrep de volta dentro do microtubo de 2ml. Pipetar 700µl do Tampão W1A dentro da coluna de AxyPrep e deixe repousar em temperatura ambiente por 2 minutos. Centrifugar a 12.000 x g por 1 minuto.
- 7- Descartar o filtrado do microtubo de 2ml. Colocar a coluna de AxyPrep de volta dentro do microtubo de 2ml. Adicionar 800µl de Tampão W2 para a coluna de AxyPrep e centrifugar a 12.000 x g por 1 minuto.
- 8- Descartar o filtrado no microtubo de 2ml. Colocar a coluna de AxyPrep de volta no microtubo de 2ml. Centrifugar a 12.000 x g por 1 minuto.
- 9- Coloque a coluna de AxyPrep dentro de um microtubo de 1,5ml. Adicione 80-200µl de Tampão TE. Deixe repousar em temperatura ambiente ppor um minuto. Centrifugue a 12000 x g por 1 minuto para diluir o DNA genômico.

## 10 APÊNDICES

### Apêndice A- Ficha de Entrevista com os Proprietários e Orientação

Registro: -----

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Nome do animal: \_\_\_\_\_ sexo: \_\_\_\_\_ data: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ raça: \_\_\_\_\_ castrado: sim \_\_\_ não \_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

—

Bairro: \_\_\_\_\_ cidade: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_

- 1- O animal apresenta histórico de briga: sim \_\_\_\_\_ não \_\_\_\_\_
  - 2- O animal foi mordido ou mordeu outro gato: sim \_\_\_\_\_ não \_\_\_\_\_
  - 3- O animal já recebeu alguma transfusão de sangue ou derivado em sua vida até o momento da coleta para o presente estudo sim \_\_\_\_\_ não \_\_\_\_\_
  - 4- Presença de ectoparasita: pulgas \_\_\_\_\_ miiase \_\_\_\_\_  
Carrapatos \_\_\_\_\_ sarna/ácaros \_\_\_\_\_  
Piolho \_\_\_\_\_ *Lynxacarus radosvsky* \_\_\_\_\_  
Outros \_\_\_\_\_
  - 5- O animal mora em: casa \_\_\_\_\_ apartamento \_\_\_\_\_ sítio \_\_\_\_\_
  - 6- O animal tem acesso à rua: sim \_\_\_\_\_ não \_\_\_\_\_
  - 7- O animal vive com outros gatos: sim \_\_\_\_\_ não \_\_\_\_\_
  - 8- O animal é vacinado: sim \_\_\_\_\_ não \_\_\_\_\_
- Sinais clínicos

