

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS DE
Toxoplasma gondii EM CAPRINOS (*Capra hircus*) CRIADOS NOS MUNICÍPIOS
DE GRAVATAÍ E VIAMÃO, REGIÃO DA GRANDE PORTO ALEGRE, RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL**

KAREN PRAETZEL MACIEL

PORTO ALEGRE

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS DE
Toxoplasma gondii EM CAPRINOS (*Capra hircus*) CRIADOS NOS MUNICÍPIOS
DE GRAVATAÍ E VIAMÃO, REGIÃO DA GRANDE PORTO ALEGRE, RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL**

Karen Praetzel Maciel

Dissertação apresentada ao Curso de Pós
Graduação da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul como um dos pré-requisitos
Para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araujo

PORTO ALEGRE

2004

KAREN PRAETZEL

INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS DE *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS (*Capra hircus*) CRIADOS NOS MUNICÍPIOS DE GRAVATAÍ E VIAMÃO, REGIÃO DA GRANDE PORTO ALEGRE, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Aprovada em -----

APROVADO POR:

PROF. DR. FLAVIO ANTONIO PACHECO DE ARAUJO, Orientador e Presidente da Comissão

PROF. DR. CARLOS MARCOS BARCELLOS DE OLIVEIRA, Membro da Comissão

PROFA. DRA. SILVIA MARIA SPALDING, Membro da Comissão

PROFA. DRA. NEUSA SALTIEL STOBBE, Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Em nossas conversas no laboratório de Protozoologia, minhas colegas e eu, brincávamos dizendo que os agradecimentos ocupariam várias páginas nos volumes de nossas dissertações.

Sábias palavras, pois se tivesse que fazer justiça a todos que participaram e ou tornaram mais fáceis e agradáveis as tarefas de meu labor, teria que me estender em uma imensa lista de nomes.

Assim, desculpo-me com aqueles que omiti, mas sem dúvida, sou-lhes grata da mesma forma como o sou com as pessoas que aqui enumero.

Em primeiro lugar, agradeço ao meu amigo, colega, incentivador e, por acaso, orientador Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araújo sem o qual jamais teria conseguido concretizar meu projeto.

Depois, aos meus colegas do laboratório, mestrandos e estagiários, que no decorrer do tempo de trabalho e convivência se tornaram muito mais que isso, se tornaram parte de meu patrimônio afetivo que espero conservar para sempre.

Aos Srs. proprietários rurais da zona de abrangência do trabalho, que gentilmente cederam seus animais para a pesquisa, em especial ao Sr. Rubens Poersthke, presidente da Coopercapri que não poupou esforços para me auxiliar e introduzir junto aos capricultores da região.

À bióloga Ms. Fátima Maria Tiecher e sua equipe pela orientação e cortesia ao disponibilizar-me o laboratório de Parasitologia do LACEN, onde é diretora e responsável. Também a Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Spalding que propiciou meu acesso ao LACEN com a tecnologia imprescindível a elaboração do trabalho.

À minha velha e magnânima UFRGS que me acolheu e cultivou, tanto agora, como a trinta anos atrás, quando pela primeira vez tive a felicidade de ingressar na Faculdade de Veterinária, cheia de sonhos e expectativas. Na verdade, exatamente como hoje!.

Finalmente, ao meu Günther por sempre acreditar, muito mais que eu própria, de que eu seria capaz de realizar tal empreitada.

Dedico este trabalho aos meus filhos, Pedro e Betina, motivo de tudo quanto eu fiz, faço e farei em nome de nós três e ao meu netinho Rafael, que chegou para colorir e adocicar os últimos meses deste ano tão auspicioso.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	09
LISTA DE FIGURAS.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. OBJETIVOS.....	15
1.1.1 Gerais.....	15
1.1.2.Específicos.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. Histórico da Capricultura.....	16
2.2. Histórico do <i>Toxoplasma gondii</i>	17
2.2.1. Sistemática.....	19
2.2.1.1. Morfologia.....	20
2.2.1.1.1. Taquizoítos.....	20
2.2.1.1.2. Bradizoítos.....	21
2.2.1.1.3. Oocistos.....	21
2.3. Ciclo Evolutivo.....	22
2.3.1. Ciclo Enteroepitelial.....	22
2.3.2. Ciclo Extraintestinal.....	23
2.4. Imunologia.....	25
2.5. Epidemiologia.....	27
2.5.1. Mecanismos de Transmissão.....	27
2.5.1.1. Para os Hospedeiros Definitivos.....	27
2.5.1.2. Para os Hospedeiros Intermediários.....	27
2.5.1.2.1. Através do Consumo de Alimentos.....	27
2.5.1.2.2. Através de Animais de Estimação.....	28
2.5.1.2.3. Via Transplacentária.....	29
2.5.1.3. Outros Meios de Transmissão.....	29
2.6. Diagnóstico.....	30
2.6.1. Diagnóstico Laboratorial.....	30
2.6.1.1. Hemograma.....	30
2.6.1.2. Diagnóstico Parasitológico.....	30
2.6.1.3. Diagnóstico Imunológico.....	32
2.6.1.3.1. Imunofluorescência Indireta.....	33
2.6.1.3.2. Hemaglutinação Indireta.....	34
2.6.1.3.3. ELISA.....	35
2.7. Toxoplasmose em Caprinos.....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1. Amostras.....	38
3.2. Técnicas Laboratoriais.....	38
3.2.1. Hemaglutinação Indireta.....	38
3.2.1.1. Princípio do Ensaio.....	38
3.2.1.2. Procedimento do Ensaio.....	38
3.2.2. Imunofluorescência Indireta.....	38

3.2.1. IFI – IgG.....	40
3.3. Leitura do Resultado.....	40
3.4. Inquérito Epidemiológico.....	41
3.4.1. Questionário epidemiológico (modelo).....	41
3.5. Análise Estatística.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1. Resultados.....	43
4.1.1. Reação de Hemaglutinação Indireta.....	43
4.1.2. Reação de Imunofluorescência Indireta.....	45
4.1.3. Comparação entre as técnicas de Hemaglutinação Indireta e Imunofluorescência Indireta.....	47
4.1.4. Perfil das propriedades participantes.....	49
4.2. Discussão.....	51
5. CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXO 1.....	65
ANEXO 2.....	66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Resultados da HAI para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável gênero43

TABELA 2 – Resultados da HAI para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável idade.....44

TABELA 3 – Resultados sorológicos (IFI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável gênero.....46

TABELA 4 – Sorologia da IFI para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável idade.....47

TABELA 5 – Comparação entre as técnicas de HAI e IFI para o diagnóstico da toxoplasmose caprina.....48

TABELA 6 – Resultados pela HAI e IFI em soros de 360 caprinos, de acordo com a concordância dos resultados.....49

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Preparação para coleta de fluido peritoneal da camundongo com 3 dias de infecção.....	39
FIGURA 2 – Coleta de fluido peritoneal para confecção de antígeno para IFI.....	40
FIGURA 3 – Resultados da HAI em soros de caprinos pertencentes ao grupo de machos e fêmeas.....	44
FIGURA 4 – Resultados da HAI em soros de caprinos pertencentes ao grupo de jovens e adultos.....	45
FIGURA 5 – Resultados de IFI em soros de caprinos pertencentes ao grupo de machos e fêmeas.....	46
FIGURA 6 – Resultados de IFI em soros de caprinos pertencentes aos grupos de jovens e adultos.....	47
FIGURA 7 – Comparação, em números absolutos, entre as técnicas de HAI e IFI para a detecção de anticorpos para <i>T. gondii</i> em soros de caprinos	48

RESUMO

A toxoplasmose é uma das enfermidades parasitárias mais difundidas entre as transmissíveis. Novos aspectos parecem justificar o reaparecimento da questão da toxoplasmose, uma vez que ela vem sendo diagnosticada em um número crescente de pacientes com imunossupressão devida a várias causas tais como doenças malignas, transplantes de órgãos e principalmente, a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Mais de 50% da população humana mundial acha-se infectada pelo *Toxoplasma gondii* com variações determinadas por fatores climáticos, sócio-econômicos, tipo de contato com animais, em especial o gato e costumes alimentares relacionados ao consumo de carnes. O *T. gondii* é um protozoário que infecta praticamente todas as espécies animais. A caprinocultura é uma atividade bastante exercida no Estado, sendo que representa 0,4% de sua atividade pecuária total. O objetivo deste trabalho foi avaliar o papel desempenhado pela espécie caprina na transmissão do *T.gondii*. A amostragem foi estratificada por idade e gênero. Foram analisadas 360 amostras de soros de caprinos, através da técnica de Hemaglutinação Indireta (HAI) e Imunofluorescência Indireta (IFI). Os resultados obtidos pela HAI estimam uma frequência de 19 % de soro-positividade e pela IFI de 30%, o que representa índices elevados. Em relação a Hemaglutinação Indireta, na variável gênero, foi observada uma frequência de 20,1% de soropositividade para os machos e 19,3% para as fêmeas, enquanto que na variável idade, os resultados demonstraram frequências de 16,5% para os indivíduos jovens e 21,1% para os adultos. No que tange à Imunofluorescência Indireta, a variável gênero demonstrou uma frequência de 14,44% de soropositivos para os machos e 15,56% para as fêmeas. Na variável idade, através desta mesma técnica, observou-se uma frequência de soropositividade de 13,06% para indivíduos jovens e de 16,94% para indivíduos adultos. Ao compararem-se as duas técnicas os dados obtidos revelam uma associação significativa entre elas, com um índice de co-positividade para a HAI de 78,6% e de co-negatividade de 81,7%. O índice Kappa utilizado para medir o grau de concordância entre as duas técnicas foi igual a 0,5% que evidencia um grau de concordância moderado entre as técnicas, recomendando, desta forma o uso cauteloso da HAI na espécie caprina. Os dados obtidos nos permitem concluir que os caprinos criados na região estudada podem ser fonte de transmissão de *T. gondii*.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is one of the most widespread parasite infections among transmitted diseases. New aspects seem to justify the resurgence of Toxoplasmosis, since the disease has been diagnosed in an increased number of patients with suppressed immune system diseases related to various causes, such as malign diseases, organ transplants, and particularly in those with Acquired Immune Deficiency Syndrome (SIDA). Over 50% of the world's human population is infected with *Toxoplasma gondii* with variations established by climatic and socio-economic factors, type of contact with animals, particularly cats, and eating habits related to meat consumption. The *T. gondii* is a protozoan that infects almost all animal species. Goat farming is a well-practiced activity in the State, representing 0,04 % of its total livestock production. The aim of this work is to evaluate the role of goat species in *T. gondii* transmission. The sampling was stratified by age and gender. Three hundred sixty (360) goats sera samples were tested by indirect hemagglutination technique (IHA) and indirect immunofluorescence test (IIF). The obtained results showed that 19% of the sera samples was positive to IHA and 30 % was positive to IFI, which represents a high level. Results of IHA associated to the variable gender showed 20.1% sera positivity frequency for male goats and 19.3 % for females, whereas the results associated to the variable age showed frequencies of 16.5% for young goats and 21.1% for adults. The results determined by indirect immunofluorescence related to the variable gender showed a frequency of 14.44% positivity for males and 15.56% for females. Using this same technique to evaluate the variable age, it was noted a seropositivity frequency of 13.06% for young goats and 16.94% for the adults. The two techniques used in the research were compared, and the obtained data showed a significant association between them, with a co-positivity rate with IHA of 78.6% and co-negativity of 81.7%. The Kappa index used to measure the agreement among the two techniques was 0,5%, showing a moderate agreement level among the techniques, therefore recommending cautious use of HAI in the goats. The obtained data allowed us to conclude that the goats that are raised in the studied area may be considered a source of *T. gondii*.

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma das enfermidades infecciosas mais difundidas entre as transmissíveis. Mais de 50% da população mundial acha-se infectada pelo *Toxoplasma gondii*, com variações de acordo com as regiões e os costumes (PIZZI, 1997).

Novos aspectos desta protozoose que recentemente têm vindo a luz, parecem justificar o reaparecimento da questão da prevalência e significado da toxoplasmose. As conseqüências da infecção intra-uterina pelo *T. gondii* estão ganhando reconhecimento e a toxoplasmose vem sendo diagnosticada em um numero crescente de pacientes com imunossupressão devida a várias causas, tais como doenças malignas, transplantes de órgãos e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Clínicamente, a encefalite toxoplásmica aparente tem sido reportada em 30 a 40% dos pacientes aidéticos (KOSKINIEMI; LAPPALAINNEN; HEDMAN, 1989).

De acordo com Schantz e McAuley (1991), a cada ano, em todo mundo, *T. gondii* infecta milhões de pessoas, que o contraem seja pela ingestão de carne crua ou mal cozida de animais infectados, tais como suínos, ovinos e caprinos, pelo consumo de leite não pasteurizado ou pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes de felinos (DUBEY, 1981; MUNDAY & MANSON, 1979).

Segundo Corcuera, Lozano e Lopez (1981), do ponto de vista epidemiológico, a toxoplasmose é uma enfermidade cosmopolita sendo sua distribuição influenciada por vários fatores, entre os quais se pode incluir: os climáticos, os sócio-econômicos, contato com animais domésticos, em especial o gato e costumes alimentares em relação ao consumo de carne.

O Rio Grande do Sul é um Estado com tradição agropecuária, sendo que grande parte de sua estrutura fundiária é baseada em minifúndios, inclusive na região da Grande Porto Alegre (Gravataí e Viamão), onde se desenvolveu o presente trabalho. A região da Grande Porto Alegre é composta por 31 municípios, com uma área total de 9. 707,9 km² e

uma população de 3.655.072 habitantes (IBGE – CENSO, 2000), situada na Depressão Central do Estado

A caprinocultura tem sido bastante exercida na região, sendo que representa 0,4% da atividade pecuária total do Estado com cerca de 72.000 cabeças, destas 1.006 encontram-se em Viamão e 710 em Gravataí. (IBGE – CENSO 2000). Porém, segundo informações de profissionais especialistas na área, o número total no Estado pode ser estimado em até 250.000 cabeças se forem contabilizados os animais que vivem em estado semi-selvagem nos morros, grutas e encostas.

Os últimos dados referentes à toxoplasmose em caprinos no Estado do Rio Grande do Sul foram obtidos na década de 80 (ARAUJO et al., 1984) e desde esta mesma época que trabalhos publicados na literatura nacional e internacional têm apontado para o fato de a toxoplasmose possuir características próprias no Estado (ARAUJO, 1999).

A escolha da Imunofluorescência Indireta (IFI) e Hemaglutinação Indireta (HAI) como técnicas para o inquérito sorológico se deveu a sua aceitação universal, grande utilização, à facilidade de realização, a boa sensibilidade e ao razoável custo.

1.1. Objetivos

1.1.1. Gerais

- Contribuir para o estudo da cadeia epidemiológica da toxoplasmose na região da Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul.
- Estudar o papel desempenhado pela espécie caprina na transmissão do *Toxoplasma gondii* nessa região do Estado.

1.1.2. Específicos

- Estimar, estratificando por idade e gênero a frequência de soro-reagentes em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre.
- Analisar a influência de fatores alimentares, de higiene e da população de felinos na transmissão dessa zoonose.
- Correlacionar estatisticamente os resultados obtidos através do emprego das técnicas da Imunofluorescência Indireta (IFI) e Hemaglutinação Indireta (HAI)

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Histórico da Caprinocultura:

A cabra foi o primeiro animal domesticado pelo homem, capaz de produzir alimentos, já há cerca de dez mil anos. De lá para cá sempre acompanhou a história da humanidade, conforme atestam os diversos relatos históricos, mitológicos e até mesmo bíblicos que mencionam os caprinos. Eles têm a mesma origem dos bovinos, com o tronco ancestral dos antílopes e a diferenciação ocorrendo no período Plioceno (Phylogenies and fossils, 2002).

As raças domésticas atuais descendem provavelmente da *Capra segragus*, da Pérsia e Ásia Menor, da *Capra falcoreni*, do Himalaia e da *Capra prisca* da bacia do Mediterrâneo. A cabra doméstica atual é a *Capra hircus*. Existe uma grande variedade de produtos de origem caprina: leite, carne, couro, pêlos e esterco além da utilidade como animal de tração. Em certas regiões do mundo, o poder de uma pessoa é medido pelo número de caprinos que possui e estes até mesmo são utilizados como o dote que acompanha a noiva em contratos de casamento, em alguns países da África. Ainda hoje a cabra tem um papel muito importante como fornecedora de alimentos, particularmente em países ou regiões em desenvolvimento. (A Caprinocultura, 2003).

De acordo com a FAO (FAO Production Yearbook, 1988/1994 apud A Caprinocultura, 2003) a caprinocultura é uma atividade que vem crescendo muito nos últimos anos. A população mundial de caprinos que é de 609 milhões de cabeças, aumentou em 7,3% entre 1979 e 1987, enquanto que a produção de bovinos aumentou em apenas 4,9% e a de ovinos em 5,7%.

A produção mundial de leite de cabra aumentou em 10,7% e a produção de carne caprina aumentou em 21,8% no mesmo período, indicando um incremento na

produtividade dos animais, uma vez que o aumento na produção de leite e carne foi maior que o aumento efetivo dos animais.

Cerca de 94,2% dos caprinos no mundo encontram-se em regiões em desenvolvimento, evidenciando a capacidade do caprino de se adaptar a condições adversas, justificando sua reputação de animal rústico. Porém, os 5,8% dos caprinos localizados em regiões desenvolvidas são responsáveis por 26,3% do leite produzido pela espécie, mostrando que, quando as condições são favoráveis, os caprinos apresentam alta produtividade.

A população mundial de caprinos tem os maiores efetivos nos continentes da Ásia e África. A América do Sul possui um pequeno rebanho com 22,8 milhões de cabeças, o que representa apenas 3,7% da população mundial. O maior rebanho da América do Sul é o brasileiro, com 12,2 milhões de cabeças, seguido da Argentina com 3,4 milhões de cabeças e a seguir a Venezuela com 1,8 milhões de cabeças.

O Brasil tem o nono maior rebanho do mundo e 90% dos caprinos estão na região nordeste, onde a maioria dos animais é criada em condições precárias, sendo exploradas apenas a carne e a pele. Por outro lado, existe no Centro-Sul uma caprinocultura voltada para a alta produtividade. Segundo dados da FAO (FAO Production Yearbook, 1982 apud A Caprinocultura, 2003) a população brasileira de caprinos aumentou em 40% entre 1970 e 1980, enquanto a população nacional aumentou em 23,8% no mesmo período

2.2. Histórico do *Toxoplasma gondii*:

Em 1908, dois pesquisadores franceses, Nicolle & Manceaux, descreveram o achado de um parasita intracelular no baço e fígado de um roedor da Tunísia no norte da África, o *Ctenodactylus gundi*. Eles acreditaram que se tratava de uma forma particular de *Leishmania*, denominando-o de *Leishmania gondii*. No mesmo ano, em São Paulo, Brasil, no Departamento de Bacteriologia do Hospital da Sociedade de Beneficência Portuguesa, Splendore descreveu o parasita em coelhos, também como *Leishmania*. Somente no ano seguinte, os primeiros autores retificaram sua posição anterior e, em um novo informe à

Academia de Ciências de Paris, renomearam o parasita como *Toxoplasma gondii* (Toxon = arco em grego) devido a forma arqueada do parasita. (FREYRE, 1989; LARSSON, 1989; DUBEY, 1999).

Nos anos seguintes, vários investigadores encontraram em diversos animais, parasitas morfológicamente semelhantes ao *T. gondii*, que foram denominados de acordo com a espécie animal onde eram detectados: *T. canis*, *T. columbae*, *T. gallinarum*, *T. cuniculi*. Porém, os estudos realizados por Sabin em 1939 levou-o a concluir que se tratava de uma única espécie de protozoário (FREYRE, 1989; PIZZI, 1997).

O primeiro caso de toxoplasmose humana foi descrito por Castellani em 1913, em um menino com quadro febril e com esplenomegalia (PIZZI, 1997). Em 1923, um oftalmologista de Praga, Checoslováquia, chamado Janku, descreveu pela primeira vez protozoários morfológicamente idênticos ao *T. gondii* em cortes de tecidos do olho de uma criança que apresentava hidrocefalia e microftalmia, caso que foi comentado cinco anos mais tarde, em 1928 por Levaditis, quem pela primeira vez relacionou a hidrocefalia com a toxoplasmose (PIZZI, 1997). Torres, em 1927, no Rio de Janeiro, descreveu em cortes histológicos de cérebro e músculos esqueléticos de um recém-nascido, falecido com vinte e nove dias, a presença de microrganismos compatíveis com *T. gondii* onde sugeriu a possibilidade de infecção congênita.

Wolf & Cowen, em 1938, em um caso de meningoencefalomielite mortal de um recém-nascido, acharam um parasita que denominaram *Encephalitozoon hominis*. Posteriormente, Sabin, em 1939 demonstrou que se tratava do *T. gondii*. Em 1939, Wolf; Cowen & Paige, estudaram outro caso de encefalomielite congênita mortal, conseguindo isolar o protozoário através de inoculações em animais, a partir do líquido cefalorraquidiano e tecidos infectados obtendo, dessa forma, a primeira cepa de origem humana. Assim se comprovou a relação do *T. gondii* com a enfermidade no homem e se demonstrou que este agente era capaz de infectar o feto no útero. A forma adquirida da toxoplasmose não foi suficientemente conhecida até 1940, quando Pinkerton & Weinman publicaram um caso de toxoplasmose aguda mortal em um adulto de 22 anos. Em 1952, Siim descreveu a forma ganglionar da protozoose (FREYRE, 1989; MACEDO, 1994; FRENKEL, 1997; PIZZI, 1997).

Jacobs, Remington & Melton relataram em 1960, a primeira demonstração da presença de cistos do *T. gondii* na carne de animais, dando considerável suporte a hipótese de que o homem poderia adquirir a infecção pelo consumo de carne mal cozida, enquanto Hutchinson em 1967, foi o primeiro a mostrar que os gatos podiam eliminar *T. gondii* pelas fezes e postulou que os parasitas estariam contidos em ovos de ascarídeos do gênero *Toxocara*. Contudo o *T. gondii* foi definitivamente separado do *Toxocara* e sua infectividade foi relacionada com um pequeno oocisto coccidiano (FRENKEL; DUBEY; MILLER, 1970). No período entre 1975 e 1976, foi descrito o ciclo selvático do parasita (PIZZI, 1997).

Uma das primeiras evidências da ocorrência da toxoplasmose caprina foi obtida por FELDMAN & MILLER (1956) examinando rebanhos no estado de Nova Iorque. A partir disto, inúmeros inquéritos epidemiológicos foram realizados em diversos países, inclusive em diversas regiões do Brasil (AMARAL et al., 1978; ARAUJO et al., 1984).

2.2.1. Sistemática:

O *Toxoplasma gondii* é, como a maior parte dos Apicomplexa, um parasita coccídeo intracelular obrigatório (DUBRUMETZ, 1999). Os protozoários que pertencem a este Filo possuem o complexo apical (FREYRE, 1989). Os hospedeiros definitivos são os felídeos, que podem ser chamados de hospedeiros completos pois também podem ser hospedeiros intermediários, quando apresentam o ciclo extra-intestinal ou tecidual o qual ocorre em muitas outras espécies de vertebrados, inclusive o homem (TABOADA & MERCHANT, 1997; FRENKEL, 1997; DUBEY, 1998).

Segundo Levine et al. (1980) e Levine (1985) o *T. gondii* apresenta a seguinte classificação taxonômica:

Reino Protista, HAECKEL, 1866
Sub-Reino Protozoa, GOLDFUSS, 1817
Filo Apicomplexa, LEVINE, 1970
Classe Sporozoea, LEUKART, 1879
Subclasse, Coccidia, LEUKART, 1879
Ordem Eucoccidiida, LEGER & DUBOSEQ, 1910
Subordem Eimeriina, LEGER, 1911
Família Sarcocystidae, POCHE, 1911
Subfamília Toxoplasmatinae, BIOCCA, 1959
Gênero Toxoplasma, NICOLLE & MANCEAUX, 1909

2.3.1. Morfologia

O *T. gondii* é encontrado sob três formas evolutivas: taquizoítos, forma de multiplicação rápida, característica da infecção aguda; bradizoítos, que estão contidos no interior dos cistos e caracteriza a forma de multiplicação lenta, nas infecções crônicas ou assintomáticas e oocistos nas fezes de felídeos, resultantes do ciclo enteroepitelial do parasita que ocorre apenas no intestino de membros da família Felidae (ACHA & SZYFRES, 1987; DUBEY, 1987; LAPPIN, 1994; DUBEY, LINDSAY & SPEER, 1998).

2.3.1.1. Taquizoítos

Em 1973, Frenkel usou o termo taquizoíto (*tachos* = velocidade) para descrever o estágio de multiplicação rápida do parasita. Observado ao microscópio óptico, o taquizoíto apresenta a forma de gomos de laranja com o extremo posterior arredondado e o anterior afilado, movendo-se por deslizamento, flexão, ondulação e rotação (DUBEY, LINDSAY, SPEER, 1998). Medem cerca de 2 a 6 µm de comprimento por cerca de 3 µm de largura. Seu protoplasma é azulado e o núcleo vermelho. É gram-negativo. Por microscopia eletrônica destacam-se as seguintes estruturas: uma parede celular formada por três

membranas; sistema conóide localizado na parte mais aguda do parasita onde se acham enzimas que constituem seu fator de penetração celular; toxonema, formações circulares que saem da conóide; núcleo; retículo endoplasmático; complexo de Golgi; mitocôndrias; vacúolos e ribossomas (PIZZI, 1997) Os taquizoítos possuem importância epidemiológica por serem as formas transmitidas verticalmente, via gestação, constituindo um problema em Saúde Pública (LARSSON, 1989).

2.3.1.2. Bradizoítos

Bradizoíto (*brady* = lento) foi o termo usado também por Frenkel em 1973 para descrever o organismo com multiplicação lenta dentro de um cisto tecidual. Os cistos crescem e permanecem nos tecidos nervosos e musculares onde se dividem por endogenia. Os bradizoítos se desenvolvem em um vacúolo citoplasmático cuja membrana transforma-se na cápsula do cisto (FRENKEL, 1997).

2.3.1.3. Oocistos

Os oocistos não esporulados são esféricos ou sub-esféricos, tendo 10 a 12 μm de diâmetro. A esporulação do oocisto ocorre no meio externo entre um e cinco dias em condições ambientais consideradas ótimas, e com ela o oocisto adquire sua capacidade infectante. Os oocistos esporulados são sub-esféricos ou elipsoidais e medem de 11 a 13 μm de diâmetro (DUBEY, LINDSAY & SPEER, 1998). Cada oocisto esporulado contém dois esporocistos elipsoidais que medem entre 6 e 8 μm . Cada esporocisto, por sua vez, contém quatro esporozoítos de 4 x 6,8 μm , que possuem um núcleo terminal ou central e uns poucos grânulos (DUBEY, 1994).

2.2.1. Ciclo Evolutivo:

O ciclo evolutivo do *T. gondii* ocorre de duas maneiras: sexuado ou ciclo enteroepitelial e assexuado ou extra-intestinal. Estes dois diferentes padrões de multiplicação ocorrem em felídeos, após a infecção. O ciclo enteroepitelial ou intestinal de infecção ocorre apenas nestes hospedeiros definitivos (gatos e em outros felídeos), enquanto o ciclo extra-intestinal de infecção é o padrão que ocorre em todas as espécies que servem de hospedeiros intermediários (SWANGO, BANKEMPER & KONG, 1992; GAGNE,2001)

2.4.1. Ciclo Enteroepitelial:

Após a ingestão de alguma das formas infectantes, ocorre no intestino dos felídeos, o ciclo enteroepitelial do parasita, ou ciclo sexual, que é do tipo monoxeno (LAPPIN, 1994; DUBREMETZ, 1999). Após a ingestão do cisto tecidual, por felídeos, a parede do cisto é dissolvida por enzimas proteolíticas no estômago e intestino delgado, liberando os bradizoítos (DUBEY, 1998b). Se a ingestão for de oocistos maduros, também no estômago são liberados os esporozoítos. A ingestão de taquizoítos também pode acontecer. Os bradizoítos, esporozoítos e taquizoítos penetram nas células intestinais dos felídeos (KAWAZOE, 2000). Os bradizoítos e esporozoítos liberados nestas células passam a taquizoítos e iniciam a formação de gerações de toxoplasmas. Este parasita passa por cinco diferentes formas reprodutivas assexuadas que vão de A a E (ACHA & SZYFRES, 1987). As formas D e E (também chamadas de merozoítos) iniciam a formação dos gametas ou gametogonia. Os gametócitos femininos e masculinos encontram-se no interior das células epiteliais intestinais e a sua fusão termina na formação de oocistos, ou zigoto, que são liberados para a luz intestinal e saem nas fezes (GARRIDO,1978; LAPIIN, 1994). Esses transmitirão o *T. gondii* para outros felídeos ou outros hospedeiros intermediários (DUBREMETZ, 1999).

Os membros da família Felidae excretam oocistos de *T. gondii* nas fezes três a cinco dias após a ingestão de bradizoítos, dezoito dias após a ingestão de oocistos esporulados e

treze dias após a ingestão de taquizoítos. Desses, os bradizoítos induzem o ciclo nos felídeos mais eficientemente porque quase todos os felídeos ingerindo cistos eliminam oocistos enquanto menos de 30% dos felídeos que ingerem taquizoítos ou oocistos eliminam oocistos (DUBEY, 1998a). O número de oocistos eliminados após a ingestão de oocistos é menor que após ingerir cistos viáveis (DUBEY, 1987)

Segundo Swango, Bankemper & Kong (1992) e Bistner & Ford (1997), os gatos expõem oocistos por menos de duas semanas e estes não são infecciosos até a esporulação que exige de um a cinco dias sob condições ideais de temperatura e umidade. O felídeo elimina milhões de oocistos na matéria fecal, que podem permanecer viáveis durante anos (PIZZI, 1997).

2.4.2. Ciclo Extraintestinal

Após um hospedeiro intermediário, ou também os felídeos, ingerirem oocistos maduros, da água ou comida contaminada, ocorre a ruptura do oocisto no intestino liberando os oito esporozoítos. Os esporozoítos multiplicam-se nas células intestinais e nódulos linfáticos, e são formados os taquizoítos (PIZZI, 1997). Essas formas são espalhadas ao resto do organismo pela circulação sanguínea e linfática (DUBEY, 1994).

Os taquizoítos então ocupam o citoplasma das células em diferentes órgãos e passam a uma forma arredondada sendo isolados pela célula hospedeira mediante a formação de um vacúolo citoplasmático. Os taquizoítos perfuram a membrana celular empregando seu pólo anterior estendido, invaginando o plasmalema da célula hospedeira sem rompê-la (FREYRE, 1989). No interior das células eles iniciam um processo de divisão rápida denominado endodiogenia, que consiste na formação de dois taquizoítos no interior de um “taquizoíto-mãe”, que em uma fase posterior rompe-se liberando esses dois parasitas menores para continuarem crescendo em rápida multiplicação dentro do vacúolo intracitoplasmático da célula hospedeira. Cada célula hospedeira contém até cem taquizoítos e esse conjunto é denominado pseudocisto. A multiplicação dos parasitas causa uma compressão mecânica com o rompimento da célula, desse modo, os taquizoítos seguem infectando outras células. Essa fase inicial da infecção (fase proliferativa),

caracteriza a fase aguda da doença (KAWAZOE, 2000). A multiplicação dos taquizoítos pode causar dano tissular severo podendo ocorrer até a morte de indivíduos imunocompetentes (LAPPIN, 1994).

Esse processo de invasão, multiplicação e ruptura celular, pode levar dias, podendo repetir-se várias vezes, dependendo do estado geral do hospedeiro e da virulência da cepa. Em indivíduos imunocompetentes, em poucos dias aparece a resposta imunológica e limita a difusão dos *T. gondii* que se encistam e permanecem vivos (PIZZI, 1997). A aparição dessa fase ocorre mais ou menos uma ou duas semanas após o início da infecção e ocorre preferencialmente no cérebro, retina e músculos. A multiplicação dos bradizoítos (no interior dos cistos) também é por endodiogenia, porém, a velocidade em que ocorre é bem menor. Esta fase cística juntamente com a diminuição da sintomatologia, caracteriza a fase crônica. Esta fase pode permanecer por longo período, por mecanismos ainda não inteiramente esclarecidos (diminuição da imunidade ou da resistência, alteração hormonal ou outros) (KAWAZOE, 2000).

Após a ingestão de cistos, enzimas proteolíticas dissolvem suas paredes liberando os bradizoítos que infectam as células epiteliais do intestino do hospedeiro. Após entrar nestas células os bradizoítos transformam-se em taquizoítos e fazem o mesmo processo após a ingestão de oocistos (repetidas divisões intracelulares, invasão da circulação, distribuição pelo organismo e encistamento) (KONEMAN et al., 1992; DUBEY, 1994). Os estudos histopatológicos e a microscopia eletrônica têm demonstrado que o *T. gondii* invade ativamente células hepáticas, fibroblastos, células miocárdicas, de músculos lisos e endotelial, neurônios, células intestinais e outras epiteliais em animais de laboratório e no homem (FRENKEL, 1986).

Segundo Dubey (1987), estes cistos provavelmente persistem por toda a vida do hospedeiro. Quando se rompe um cisto tissular, ocorre uma reação de hipersensibilidade localizada capaz de causar inflamação, bloqueio dos vasos sanguíneos e morte celular próxima ao cisto (JAWERZ et al., 1991).

A imunossupressão devida a agentes quimioterápicos ou moléstias debilitantes como a cinomose (em cães) e a leucemia felina (em gatos), pode ocasionar a reativação da multiplicação, com bradizoítos revertendo à taquizoítos em proliferação (SWANGO, BANKEMPER & KONG, 1992).

Nos hospedeiros intermediários também pode ocorrer transmissão vertical através dos taquizoítos. Um hospedeiro susceptível pode, durante a amamentação ingerir taquizoítos eliminados no leite. As formas de taquizoítos que chegam ao estomago serão destruídas mas as que penetram na mucosa oral poderão evoluir do mesmo modo que os cistos e oocistos (KAWAZOE, 2000). Após a ingestão de oocistos ou cistos e liberação de taquizoítos para a circulação, se o hospedeiro intermediário for uma fêmea gestante, o parasita pode invadir os tecidos do feto (BLOOD & RADOSTITS, 1991).

2.5. Imunologia

A imunidade protetora contra o *T. gondii* é específica e ocorre através dos mecanismos humoral e celular (CHEMELLO, ECKERT & TEIXEIRA, 1998). As células do sistema imune que freiam o parasita são monócitos/macrófagos, com o auxílio de anticorpos específicos da classe IgM e IgA num primeiro momento, e a seguir, os linfócitos T sensibilizados (CAMARGO, 1995; CAMARGO, 1996). Os taquizoítos viajam pela circulação sangüínea no interior dos linfócitos, protegidos dos anticorpos (FRENKEL, 1986).

Os anticorpos humorais atuam sobre as formas livres no sangue, ou seja, sobre toxoplasmas extracelulares, causando rompimento da membrana celular na presença de um complemento, produzindo escapamento de citosol (FRENKEL, 1985). Quanto aos mecanismos humorais, inicialmente ocorre a produção de IgM e IgA, caracterizando a fase aguda da doença, seguida da produção de IgG. O aumento nos títulos de IgM é geralmente de curta duração, sendo que as IgA desaparecem antes dos anticorpos IgM. As IgG podem persistir com títulos elevados por um longo tempo (CAMARGO, 1995; CHEMELLO, ECKERT & TEIXEIRA, 1998).

O *Toxoplasma gondii* é capaz de parasitar todos os órgãos, tanto de humanos quanto de animais, tendo especial afinidade pelo sistema nervoso, notadamente na sua forma crônica, onde permanece, principalmente, no sistema nervoso central e coriorretina. Os

taquizoítos de *T. gondii* podem persistir por longo tempo no cordão espinhal e cerebral e como cistos viscerais porque a imunidade é pouco efetiva nos órgãos neuronais. Esses taquizoítos também podem estar presentes na placenta meses depois do início da infecção na fêmea. Na maioria das vezes infecta o organismo sem oportunizar consequências clínicas aparentes devido a sua forma crônica (GRÜNSPAN, 1996; DUBEY, 1998b).

Em algumas circunstâncias a toxoplasmose pode ocorrer em graus variáveis de gravidade que podem ocasionar seqüelas severas e fatais como em certas cepas de maior virulência, uma dose infectante maior, uma via de penetração mais favorável e um hospedeiro com suas defesas orgânicas abaixo da normalidade (FREYRE, 1989). O grupo de indivíduos mais susceptíveis inclui receptores de órgãos transplantados, pacientes com certos tipos de câncer e pacientes portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (ALEXANDER & HUNTER, 1998). Segundo Dubey (1987), a idade do animal, o gênero e a espécie também influem na susceptibilidade ao *Toxoplasma gondii*.

Existem três linhagens principais do parasita relacionadas com a virulência: a Tipo 1 esta associada a virulência aguda em camundongos; a Tipo 2 induz patologia crônica em linhagens susceptíveis de camundongos e a Tipo 3 que é a menos virulenta. Em humanos a linhagem Tipo 1 esta freqüentemente associada a infecções congênitas enquanto que a Tipo 2 é mais comum em pacientes onde a doença foi reativada. Ainda existe o fato de os oocistos produzirem infecção mais virulenta que os cistos (ALEXANDER & HUNTER, 1998).

Segundo Denkers, Casper & Sher (1994), a resposta imunológica dos organismos ao *T. gondii* é complexa e faz com que o hospedeiro imunocompetente desenvolva imunidade contra o parasita durante toda sua vida tornando este hospedeiro muito resistente a uma reinfecção.

2.6. Epidemiologia

2.6.1 Mecanismos de Transmissão

2.6.1.1. Para os Hospedeiros Definitivos (felinos)

A maioria dos gatos se infecta através da ingestão de roedores cujos tecidos contém taquizoítos (pseudocistos) ou bradizoítos (cistos) embora também possa ocorrer transmissão direta de oocistos entre gatos (PIZZI, 1997; URQUHART et al., 1998) e a transmissão placentária (LAPPIN, 1994).

Segundo Dubey (1996), os oocistos de *T. gondii* são menos infectivos para gatos do que para camundongos, concordando com as observações de Dubey & Beattie (1988), quando afirmaram que os oocistos são altamente infectivos para hospedeiros intermediários e moderadamente infectivos para gatos.

Powell, Brewer & Lappin (2001), realizaram um estudo onde foram infectados seis gatos com *T. gondii* via oral e detectaram o protozoário no leite de cinco destes animais, utilizando ensaio biológico ou PCR (Reação de Polimerase em Cadeia) e os oocistos foram encontrados nas fezes de um a vinte e seis dias antes do *T. gondii* ser detectado no leite.

2.6.1.2. Para os Hospedeiros Intermediários

2.6.1.2.1. Através do Consumo de Alimentos

Nos alimentos de origem animal o *T. gondii* é mais prevalente nos produtos suínos, seguido dos ovinos e caprinos (GARCIA et al., 1999c). De acordo com Dubey (1986) carne fresca e lingüiça de porco são a principal fonte de toxoplasmose humana em muitos países, seguida das carnes de cabra, ovelha e mesmo de galinha. Segundo Navarro et al. (1992b) o fato de grande parte das lingüiças no Brasil serem processadas artesanalmente contribui para aumentar o risco da doença.

Num estudo de Kimball et. al. (1974) a proporção de humanos que adquiriram infecção por *T. gondii* foi mais alta nas populações que tem o hábito de consumir carne mal-passada do que naquelas que costumam cozinhar bem as carnes antes de consumi-las. Segundo Amato Neto et al. (1995) em sociedades onde existia alto consumo de carnes cruas ou mal cozidas e regiões com falta de saneamento básico apresentaram taxas mais altas de infecção. Vários autores relataram surtos de toxoplasmose humana a partir do consumo de carnes mal cozidas, verduras contaminadas, através do aleitamento materno e pelo consumo de água contaminada com oocistos do protozoário.

Em caprinos também já foram descritos surtos naturais de toxoplasmose congênita e perinatal na Austrália e Estados Unidos (MUNDAY & MANSON, 1979; DUBEY, 1981c), bem como infecção experimental comprovando a transmissão do agente através da via transplacentária (DUBEY, 1985; DUBEY, 1988). Segundo Sella (1994) é fato de grande preocupação a transmissão da toxoplasmose caprina através do leite “in natura” e de seus subprodutos, bem como da carne e seus derivados quando consumidos quer por seres humanos, quer por outras espécies animais.

2.6.1.2.2 Através de Animais de Estimação

Os gatos de rua têm a chave da epidemiologia da toxoplasmose, devido a areia e o solo contaminados por suas fezes contendo oocistos, serem fontes duradouras de infecção (ARAUJO, SILVA & LANGONI, 1998).

O fato de os felinos cobrirem suas fezes após defecarem contribui para aumentar as condições de sobrevivência dos oocistos. Lappin (1994) diz que a infecção por contato direto com felinos que excretam oocistos é muito pouco provável, uma vez que os oocistos devem esporular para serem infectantes e os felinos são animais muito higiênicos não deixando resquícios de fezes em sua pelagem por tempo suficiente para permitir a esporulação dos oocistos.

Lindsay et al.(1997) estudaram o mecanismo de transmissão de oocistos por cães e concluíram que se os cães rolarem em fezes de gatos contendo oocistos não esporulados, estes oocistos não esporulam nos pêlos dos cães provavelmente por condições

inadequadas para tal. Num outro experimento os mesmos autores demonstraram que oocistos esporulados de *T. gondii* podem atravessar o trato intestinal dos caninos e serem excretados nas fezes, nesse mesmo estágio infeccioso, sendo assim infectantes para humanos.

2.6.1.2.3. Via Transplacentária

A incidência mundial da toxoplasmose congênita é estimada em 0,3 a 1,0 para cada mil nascimentos vivos (TROJOVSKY, 1998) e segundo Kawazoe (2000), cerca de 40% dos fetos humanos podem adquirir o *T. gondii* durante a gravidez, estando a gestante na fase aguda da doença (ou se houver reativação de cistos da fase crônica da doença, o que é raro).

O perigo reside sobre as gestantes que adquirem a primoinfecção durante a gravidez. Para que o bebê chegue a sofrer danos, a mãe deverá ser soro-negativa para toxoplasmose e ter-se contaminado durante a gestação. Os danos à criança estarão na dependência de vários fatores tais como: estado geral da paciente; virulência da cepa e estágio gestacional em que se produziu a infecção (PIZZI, 1997).

2.6.1.3. Outros Meios de Transmissão

Pizzi (1997) relata terem-se encontrado diversos gêneros de artrópodos disseminadores tais como carrapatos, mosquitos hematófagos, moscas punctantes, escaravelhos e coleópteros naturalmente infectados.

A dispersão por baratas e moscas, tem sido relatada como um veículo mecânico (FREYRE, 1989). Também foi verificada a presença de oocistos infectivos nas fezes de baratas (WALLACE, 1973). Recentemente, modos iatrogênicos de transmissão, transfusão de sangue, e órgãos transplantados, têm sido reconhecidos como transmissores de toxoplasmose (SCHANTZ & McAULEY, 1991). Também Dubey e Sharman (1980)

relataram a presença do parasita no sêmen de caprinos após sete dias da infecção com oocistos.

2.7. Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose depende de uma combinação entre as informações clínicas e os dados de laboratório (FRENKEL, 1997) uma vez que os sinais clínicos nem sempre são evidentes, não constituem um meio confiável de referência. O raio X é um exame que pode nos dar apenas um diagnóstico presuntivo uma vez que pode-se achar lesões compatíveis com a doença, de acordo com o órgão afetado, como padrão intersticial difuso ou alveolar no pulmão, derrame pleural, derrame peritonal, aumento de volume do fígado e linfonodos e presença de massas intestinais (LAPPIN, 1994).

2.7.1. Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado tanto por métodos parasitológicos (demonstração direta, busca e isolamento do coccídio) quanto por métodos imunológicos (métodos indiretos).

2.7.1.1. Hemograma

No hemograma a alteração observada é a linfocitose persistente, ainda que moderada (GARCIA – NAVARRO & PACHALY, 1994). Marques & Costa (1982) observaram em ovinos inoculados com taquizoítos e oocistos de *T. gondii*, leucopenia nos sétimo e décimo primeiro dias e neutropenia e linfocitose nos décimo primeiro e décimo quinto dias após inoculação. Segundo Freyre (1989) é difícil observar o *T. gondii* no sangue devido a brevidade da parasitemia e ao escasso número de parasitas no sangue.

2.7.1.2. Diagnóstico Parasitológico

O exame fecal em felinos consiste na demonstração de oocistos nas fezes, o que pode ser feito por flutuação ou centrifugação com solução de açúcar de Sheather ou Dubey. Os oocistos de *T. gondii* medem em cerca de 10x12 µm, o que representa 1/8 do tamanho de ovos de *Toxocara cati*. Os oocistos não podem ser diferenciados ao microscópio de *Hammondia hammondi* e *Besnoitia darlingi*, que são dois oocistos não patogênicos para os gatos. Porém, devido aos riscos para saúde pública, recomenda-se assumir os oocistos como sendo de *T. gondii* e tomar as devidas precauções. O ideal é inocular os oocistos esporulados encontrados nas fezes, em camundongos ou tecidos residuais (DUBEY, 1994). Segundo Sloss, Zajak & Kemp (1999), os oocistos do *T. gondii* também não podem ser distinguidos de *Frenkelia* em fezes de felinos.

Oocistos podem ser detectados nas fezes de gatos no período de eliminação ativa do ciclo enteroepitelial que dura uma a duas semanas. Mas como a maioria dos gatos é assintomática durante este estágio, os exames fecais, então, não são feitos, a menos que haja concomitantemente o ciclo extra-intestinal, ocorrendo assim, sinais clínicos de toxoplasmose sistêmica (SWANGO, BANKEMPER & KONG, 1992).

A pesquisa direta do *T. gondii* pode ser feita a partir de diversos componentes orgânicos como sangue, líquido cefaloraquidiano, saliva, escarro, medula óssea, cortes de placenta, além de conteúdos de infiltrados cutâneos, do baço, fígado, músculos e gânglios linfáticos. Uma porção do material obtido por punção ou biópsia pode ser utilizada para fazer diagnóstico por inoculação em camundongos e outra parte pode ser fixada e submetida a exame histopatológico.

A demonstração de taquizoítos e bradizoítos em biópsia de tecidos pode ser feita utilizando hematoxilina-eosina ou imunohistoquímica, ou pela técnica de imunofluorescência em tecidos (LAPPIN, 1994). De acordo com Neto & Marchi (1999), também são utilizados os métodos de coloração de Leishman, Giemsa, Wright, entre outros. Contudo, com achados negativos não deve ser descartada a possibilidade de toxoplasmose (SWANGO, BANKEMPER & KONG, 1992). Na necrópsia as lesões mais pronunciadas estão na placenta e consistem em necrose focal e calcificação das vilosidades cotiledonais (DUBEY, 1990).

2.7.1.3. Diagnóstico Imunológico

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é feito normalmente pela identificação e quantificação de anticorpos específicos através de sorologia (CAMARGO, 1996). Os testes sorológicos são muito utilizados para confirmar o diagnóstico de doenças infecciosas e parasitárias em animais. Isso se deve a facilidade de obtenção de amostras de sangue, ao baixo custo, a rapidez de execução de vários destes testes e aos resultados, em geral, altamente específicos (MATUKUMA & RICHTZENHAIM, 1997).

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose em gestantes, recém-nascidos e demais indivíduos deve ser corretamente interpretado para diferenciar infecção de doença. Se a intenção é avaliar a imunidade do paciente, os testes sorológicos que detectam anticorpos da classe IgG serão suficientes (CAMARGO, 1996). Para que o diagnóstico seja exato, sempre se deve caracterizar a existência de sintomas clínicos típicos com a presença de títulos elevados e crescentes em pares de amostras séricas, submetidas as provas diagnósticas usuais (LARSSON, 1989). Uma infecção aguda por *T. gondii* unicamente significa que o microrganismo está se multiplicando rapidamente, fenômeno que pode ou não estar acompanhado de sinais clínicos (CAMARGO, 1996).

O animal catalogado como positivo em títulos baixos, ou seja, com diluições entre 1:16 e 1:256, nas reações de imunofluorescência e hemaglutinação indireta é aquele animal que, em algum momento de sua vida, entrou em contato com o *T. gondii*, se infectou, mas em virtude de sua resposta imunológica, das características de patogenicidade e virulência do agente ou da dose infectante, superou o quadro mórbido, permanecendo apenas como uma cicatriz imunológica pelo resto de sua vida (LARSSON, 1989). No recém-nascido, anticorpos da classe IgG específicos, podem ser anticorpos maternos de transferência passiva, que na criança não infectada, desaparecem progressivamente até a negatificação ao longo do primeiro ano de vida (CAMARGO, 1996).

Devido ao fato de os gatos, usualmente, não desenvolverem anticorpos durante o período de eliminação dos oocistos, o exame sorológico não nos fornece uma informação útil sobre a transmissibilidade da toxoplasmose através de um gato em particular. Porém, se um gato é sorologicamente positivo, ele provavelmente eliminou oocistos. Assim, um gato sorologicamente positivo (imune) pode representar menos perigo

que um negativo (não imune). Mas gatos imunes ou não imunes podem vir a eliminar oocistos, sendo então sempre apropriado ter precauções ao lidar com fezes de felinos (DUBEY, 1987).

Diversas provas imunológicas têm sido utilizadas na avaliação da infecção toxoplásmica, destacando-se as reações de hemaglutinação e imunofluorescência indireta.

2.7.1.3.1. Imunofluorescência Indireta

O primeiro relato da aplicação da reação de imunofluorescência para o diagnóstico do protozoário *T. gondii*, foi em 1957 por Goldman (SUZUKI, SUTO & FUJITA, 1965). O diagnóstico de toxoplasmose em animais pela imunofluorescência ocorreu apenas em 1964 quando Ito e colaboradores utilizaram testes diretos desta reação (CORRÊA, SALATA & OLIVEIRA, 1978).

O teste de imunofluorescência indireta é, segundo vários autores como Dubey (1990) e Frenkel (1997), entre outros, altamente específico e sensível. Os anticorpos IgG aparecem uma a duas semanas após a infecção, alcançam títulos altos (1;1000) em seis semanas e depois caem lentamente permanecendo baixos por toda a vida (LARSSON, 1989; MACEDO, 1994).

A utilização da IFI no diagnóstico, no inquérito e no levantamento epidemiológico tem sido de aceitação universal, tanto para a espécie humana como para outras espécies animais por ser considerada de fácil realização, de grande sensibilidade e praticamente isenta de problemas de infecção acidental para os laboratoristas (ARAUJO, 1999). Outra vantagem do teste é que não requer organismos vivos (URQHART et al., 1998). Esta técnica apresenta a desvantagem de requerer equipamentos caros e especiais como, por exemplo, o microscópio de epifluorescência e as antigamaglobulinas específicas para cada espécie (LARSSON, 1989). Outra vantagem é que como a IFI – IgG evidencia anticorpos dirigidos para os antígenos de superfície do *T. gondii*, é mais precoce que a HAI. Os títulos revelados pela IFI ascendem ao redor do oitavo ou do décimo dia pós-

infecção e pela HAI, somente após o décimo quarto dia (DÁNGELINO & ISHIZUKA, 1986b).

2.7.1.3.2. Hemaglutinação Indireta

A reação de hemaglutinação indireta, empregada pela primeira vez em 1957 no diagnóstico da toxoplasmose por Jacobs e Lunde, revela imunoglobulinas G (IgG) relacionadas a constituintes protéicos intracitoplasmáticos. Apresenta a vantagem de dispensar o emprego de antígeno vivo, ser passível de armazenamento em refrigerador por muito tempo, prática e sem riscos de acidentes para laboratoristas (LARSSON, 1989). De acordo com Neto & Marchi (1999), a técnica possui um baixo custo e permite uma triagem satisfatória.

A hemaglutinação indireta mede anticorpos que aparecem mais tardiamente, os títulos atingem um máximo aos trinta a sessenta dias, logo decrescem e persistem com títulos baixos, mas por esse motivo não é indicado para diagnóstico e sim como *screening* (WERNER, 1988; LARSSON, 1989; MACEDO, 1994).

Segundo Blood & Radostist (1991), o teste de hemaglutinação indireta para *T. gondii* possui pouca especificidade, resultando em reações cruzadas com outros protozoários como *Besnoita* e *Sarcocystis spp.*, o que diminui sua precisão.

A prova é realizada em microplacas contendo orifícios, e tem como princípio que as hemácias de aves ou de carneiros sensibilizadas com extrato solúvel de taquizoitos de *T. gondii* formam suporte para uma ligação, possibilitando a formação de pontes moleculares na presença do anticorpo específico (aspecto de tapete de hemácias aglutinadas como resultado positivo). A ausência destes anticorpos no soro impossibilita a formação de pontes antigênicas, facilitando a sedimentação das hemácias no fundo da placa, dando um resultado negativo (NETO & MARCHI, 1999).

2.7.1.3.3. ELISA

O ELISA é um teste altamente sensível e específico, segundo os trabalhos de vários autores (CORCUERA, LOZANO & LOPEZ, 1981; DUBEY et al., 1996b). É uma técnica que apresenta a vantagem de ser automatizada não apresentando risco de manipulação para o laboratorista. Segundo Guhl et al. (1981) tem como vantagem sobre as outras técnicas a utilização de uma única diluição de soro, realizando-se uma só medição colorimétrica, já que a quantidade de anticorpos presentes no soro é diretamente proporcional a intensidade de cor, dada pelo desdobramento enzimático do substrato. Isso representa a possibilidade de se analisar um número consideravelmente maior de amostras simultaneamente, o que implica um gasto menor de reativo. Esta técnica tem a desvantagem de necessitar um equipamento inicial de alto custo (CORCUERO, LOZANO & LOPEZ, 1981). Segundo Araújo (1999), suas principais desvantagens são sua maior complexidade e os problemas para a purificação e padronização dos diversos reagentes.

2.8. Toxoplasmose em Caprinos

Foram Feldman & Miller (1956) que obtiveram uma das primeiras evidências de toxoplasmose em caprinos ao examinar rebanhos no Estado de Nova Iorque, EUA. Também já foram descritos surtos naturais de toxoplasmose congênita e perinatal em caprinos na Austrália e outras regiões dos Estados Unidos (Munday & Manson, 1979; DUBEY, 1981c) bem como a transmissão experimental comprovando a transmissão do agente através da via transplacentária (DUBEY, 1985; DUBEY, 1988).

No Brasil, utilizando várias técnicas, pôde-se destacar os trabalhos de Amaral, Santos & Rebouças (1978) na Bahia e Araújo et al. (1984) no Rio Grande do Sul que encontraram, respectivamente 10% e 16,1% de anticorpos anti-*T. gondii* pela técnica de HAI.

Segundo Silva e Langoni (2000), os caprinos são os animais domésticos nos quais a toxoplasmose acarreta a doença de forma mais séria e os sinais clínicos são bastante

comuns e evidentes. A infecção por *T. gondii* pode causar morte embrionária precoce e reabsorção fetal, morte fetal com mumificação, aborto, natimortos ou morte perinatal. Os cabritos sobreviventes podem estar infectados com o parasita (DUBEY et al., 1986; DUBEY, 1990). Estes abortos e casos de toxoplasmose congênita geram grandes perdas econômicas, em especial para pequenos produtores.

Segundo Dubey (1981, apud Sella, 2000) as perdas podem ser minimizadas pela manutenção dos animais que já abortaram, pois em geral os abortos só ocorrem uma única vez.

Machado & Lima (1987) obtiveram, através da técnica de IFI, 36,1% de anticorpos anti-*T. gondii* em rebanho leiteiro, 11,4% em animais criados extensivamente e destinados ao abate e 62,9% em criações destinadas a alimentação e renda familiar. Nesse mesmo trabalho, os autores concluem que a frequência da toxoplasmose está associada à forma de exploração dos animais.

Figueiredo et al. (2001) realizaram um estudo comparativo entre as técnicas de HAI e IFI, para determinar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em 174 soros de cabras da região de Uberlândia, MG. O estudo demonstrou a alta concordância entre as técnicas utilizadas e apresentou uma soroprevalência global de 18,4% que pode ser considerada baixa se comparada a outras regiões do país.

Em Pernambuco, Silva et al. (2003) usaram a reação da IFI para comparar variáveis epidemiológicas na toxoplasmose de ovinos e caprinos de propriedades localizadas em duas regiões do Estado. Dos 213 soros caprinos examinados, 40,4% apresentaram-se positivos. Os resultados da IFI para os caprinos foram significativamente associados ao sexo, raça, região, tipo de manejo e exploração, mas não relacionados com a ocorrência de falhas reprodutivas.

Também já foram descritos surtos naturais de toxoplasmose congênita e perinatal em caprinos na Austrália e outras regiões dos Estados Unidos (MUNDAY & MANSON, 1979; DUBEY, 1981c) bem como a transmissão experimental comprovando a transmissão do agente através da via transplacentária (DUBEY, 1985; DUBEY, 1988).

De 2.334 cabras testadas em diversas regiões dos Estados Unidos da América, 23% eram positivas para *T. gondii* (DUBEY, 1990). Os cistos teciduais são encontrados em diversos tecidos de cabras infectadas natural ou experimentalmente com

oocistos (DUBEY, 1980; DUBEY et al., 1980). Os cistos persistem nos cabritos infectados via transplacentária além de 235 dias após o nascimento (DUBEY, 1981) e persistem nos fígados, rins e outros tecidos de cabras adultas infectadas experimentalmente por períodos tão longos quanto 441 dias após a infecção (DUBEY, 1982). Estes aspectos indicam que a carne caprina pode ser uma fonte de infecção importante de *T. gondii* para o ser humano.

4. MATERIAL E METODOS

4.1. Amostras

A amostragem foi do tipo randômica e estratificada por idade e gênero dos animais de acordo com Thrusfield (1986), para uma expectativa de prevalência de 10%, com uma precisão absoluta de 5%, com um nível de confiança de 99%. Dessa forma foram constituídos dois grupos experimentais de caprinos:

GRUPO I – constituído por animais jovens (menos de 1 ano): 168 animais;

GRUPO II – constituído por animais adultos (mais de 1 ano): 192 animais.

Posteriormente, classificaram-se os animais de acordo com o gênero em dois subgrupos (173 machos e 187 fêmeas).

O processo de coleta de sangue foi feito por punção na jugular com seringas descartáveis, o qual foi armazenado em tubos de ensaio, até a separação do coágulo. Após a extração do soro, as amostras foram mantidas a temperatura de -20°C até a data do processamento laboratorial. Os exames foram realizados no Laboratório de Protozoologia, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN).

4.2 Técnicas Laboratoriais

4.2.1 Hemaglutinação Indireta: Foi realizada utilizando-se o Kit – HAP Toxoplasmose (*).

4.2.1.1 Princípio do Ensaio:

As amostras de soros contendo anticorpos específicos contra *T. gondii* reagem com hemácias sensibilizadas com antígeno solúvel do parasita, aglutinando-as, revelando dessa forma os anticorpos tipo IgG.

4.2.1.2. Procedimento do Ensaio:

Na placa de microtitulação foram colocados 25 µL de diluente do soro, em todos os poços. Depois foram adicionados 25 µL do soro controle positivo no poço 1 da fileira A e 25 µL do controle negativo no poço 1 da fileira B. Nas outras fileiras (C até H), foram colocados 25 µL dos soros dos caprinos a serem testados. A seguir, procedeu-se a diluição dos soros, sendo passados 25 µL do homogeneizado para os

poços seguintes. Então foram adicionados 25 μ L de solução de Hemácia Toxo (antígeno), nos poços referentes a diluição 1:64.

4.2.2 Imunofluorescência Indireta (IFI – IgG)

O antígeno utilizado constituiu-se de taquizoítos íntegros de *T. gondii*, cepa congênita (isolada de um caso humano e cedida pelo Laboratório de Imunidade Humoral e Celular em Protozooses - FIOCRUZ). Esses taquizoítos foram obtidos de exsudatos peritoniais de camundongos mortos no terceiro dia de infecção (Figuras 1 e 2), injetando e aspirando da cavidade peritoneal, 2 mL de solução salina (NaCl 0,85%), com seringa e agulha. A suspensão peritoneal de células foi submetida a centrifugação a 500 rpm/5 min, para sedimentação de leucócitos e detritos e o sobrenadante centrifugado a 3.000 rpm/10 min para sedimentação dos parasitas. O sedimento foi, então, suspenso em citrato de sódio a 3,8% em solução tampão fosfato (PBS) pH 7,2% e submetido a nova centrifugação a 3.000 rpm/10 min para concentrar os parasitas. Após, o sedimento foi fixado em Formol a 1% em PBS pH 7,2% e a concentração ajustada a fim de se obter 50 – 70 taquizoítos por campo microscópico quando examinado em aumento de 400vezes (Araújo, 1999).



FIGURA 1 – Preparação para coleta de fluido peritoneal de camundongo com 3 dias de infecção.



FIGURA 2 - Coleta de fluido peritoneal para confecção de antígeno para a IFI.

2.2.1. IFI – IgG:

O antígeno foi distribuído em Laminas Perfecta® n°5, depositando-se pequenas gotas nas áreas delimitadas sobre a lâmina, aspirando-se o excesso de suspensão. Essas lâminas foram, então, secas na estufa a 37°C por 30 min. Enquanto isso, os soros foram diluídos inicialmente, até 1:64 em PBS 7,2, sendo que para cada bateria de testes eram incluídos um soro controle positivo e outro negativo. Nas lâminas com antígeno, já secas, foram adicionados os soros diluídos e incubadas na estufa, com papel filtro umedecido por baixo, durante uma hora a 37°C. Depois de retiradas da estufa as lâminas foram lavadas por três vezes (5 min para cada vez), com PBS pH 7,2.

Após a secagem das lâminas acrescentou-se, então, o conjugado fluorescente anti-IgG caprino (SouthernBiotech®) diluído em solução de Evans 0,1% mais PBS pH 7,2. Após nova incubação a 37°C por 1 hora, as lâminas foram submetidas novamente a três lavagens com PBS pH 7,2 por 5 min cada vez e secas. Por último, eram montadas com lamínula, usando 2 a 3 gotas de glicerina (Merck®) tamponada em PBS (9:1).

4.2.3. Leitura do resultado:

As leituras foram efetuadas ao microscópio óptico de imunofluorescência Nikon – Labophot-2, objetiva com aumento de 40 vezes e ocular CFWE 10x A/18 .

4.3 Inquérito Epidemiológico

Um questionário foi aplicado nas propriedades participantes do experimento. No questionário foram formuladas aos criadores questões sobre suas práticas de manejo, presença de gatos na propriedade, métodos de controle de roedores, tamanho da propriedade e conhecimento sobre casos de toxoplasmose na propriedade ou na região.

4.3.1. Modelo de Questionário Epidemiológico:

1. Qual a atividade pecuária da propriedade?
 - a) somente criação de cabras
 - b) criação de cabras e outras
2. Qual o ciclo de criação dos caprinos?
 - a) contínuo
 - b) intermitente
3. Qual o número de animais na propriedade?
 - a) mais de 30
 - b) menos de 30
4. Qual tipo de manejo empregado na propriedade?
 - a) pastejo ao ar livre
 - b) confinamento total
 - c) confinamento parcial
 - d) outro
5. Há presença de roedores na propriedade?
 - a) sim
 - b) não
6. Há presença de gatos na propriedade?
 - a) sim
 - b) não
7. No caso de resposta afirmativa a pergunta anterior, especificar quantos gatos:
 - a) de 1 a 5

- b) de 6 a 10
 - c) mais de 10
 - d) muitos (não sabe quantos)
8. Quais os métodos de controle de roedores empregados?
- a) ativos (produtos químicos, armadilhas, destruição de tocas)
 - b) passivos (uso de gatos e/ou depósitos de ração a prova de roedores)
 - c) combinação dos dois métodos
9. Os gatos tem acesso aos caprinos?
- a) sim
 - b) não
10. Os gatos tem acesso aos alimentos e água servida aos caprinos?
- a) sim
 - b) não
11. Existe produção de laticínios na propriedade?
- a) sim
 - b) não
12. Os laticínios produzidos são utilizados para consumo próprio e/ou venda direta?
- a) sim
 - b) não
13. Existem casos de toxoplasmose humana ou animal na propriedade?
- a) sim
 - b) não
14. Existem casos de toxoplasmose na região?
- a) sim
 - b) não
15. Se a resposta anterior for positiva, quantos?
- a) um
 - b) dois
 - c) três
 - d) mais de três

4.4. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise estatística:

- O Teste Exato de Fisher ($\alpha = 0,05$), foi utilizado nas análises comparativas;
- O Teste de McNemar foi utilizado nos estudos pareados;

- A porcentagem de Concordância foi calculada para verificar o relacionamento entre as duas técnicas, HAI e IFI, segundo Coutinho et al.(1970) e Araújo (1999), (Anexo 1).
- O índice Kappa foi utilizado para medir o nível real da concordância entre as duas técnicas.

2 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resultados

4.1.1 Reação de Hemaglutinação Indireta

Através da Reação da Hemaglutinação Indireta foram encontrados anticorpos para *Toxoplasma gondii* em 70 (19,44%) do total de 360 amostras de soros de caprinos coletadas em capris da região da Grande Porto Alegre. Este valor corresponde à estimativa em ponto da frequência de positividade, sendo que dentro do intervalo de confiança de 95% ele pode variar de 15,3% a 23,5%.

TABELA 1 – Resultados sorológicos (HAI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável gênero,

Gênero	Positivos	Negativos	Total
Machos	34 9,44%	139 38,61%	173 48,05%
Fêmeas	36 10,00%	151 41,94%	187 51,94%
Total	70 19,44%	290 30,55%	360 100%

O Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 1 revelou não haver diferença significativa na frequência de anticorpos para o *T. gondii* entre machos e fêmeas ($p=1.0000$).

Os resultados detectados pela HAI nos grupos de machos e fêmeas estão demonstrados na figura 3.

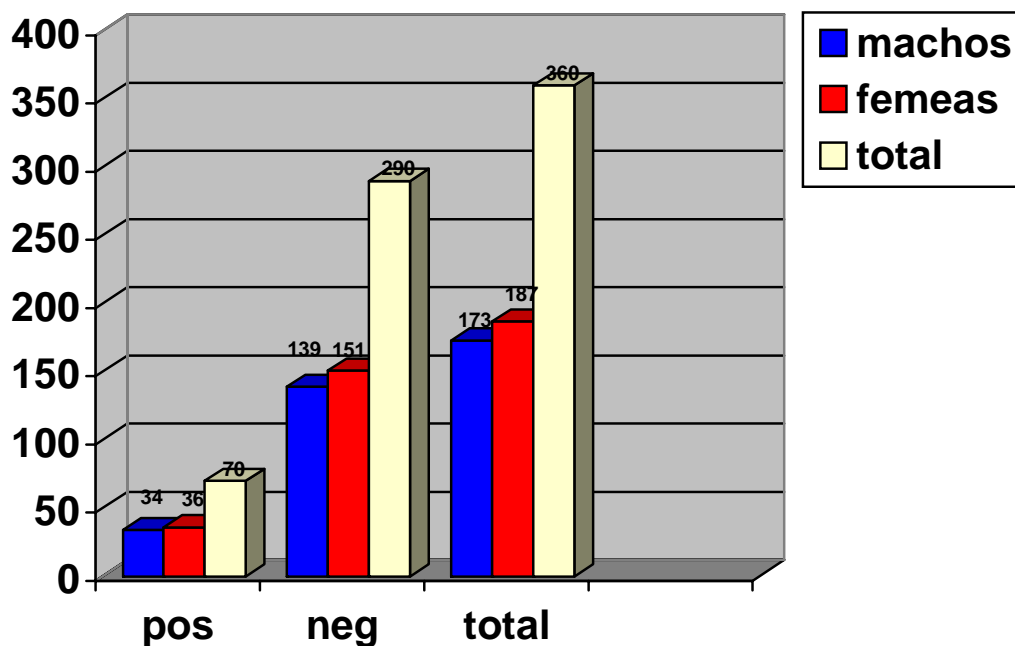


FIGURA 3 – Resultados da Hemaglutinação Indireta em soros de caprinos pertencentes aos grupos de machos e fêmeas.

Os resultados encontrados através da sorologia por HAI, em função da faixa etária dos animais encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2 – Resultados sorológicos (HAI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável idade.

Idade	Positivos	Negativos	Total
Jovens	29 3,05%	139 38,61%	168 46,66%
Adultos	41 11,38%	151 41,94%	192 53,33%
Total	70 19,44%	290 30,55%	360

O Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 2 revelou não haver diferença significativa na frequência de anticorpos para o *T. gondii* entre jovens e adultos ($p = 0,4894$).

Os resultados detectados pela HAI nos grupos jovens e adultos estão demonstrados na figura 4.

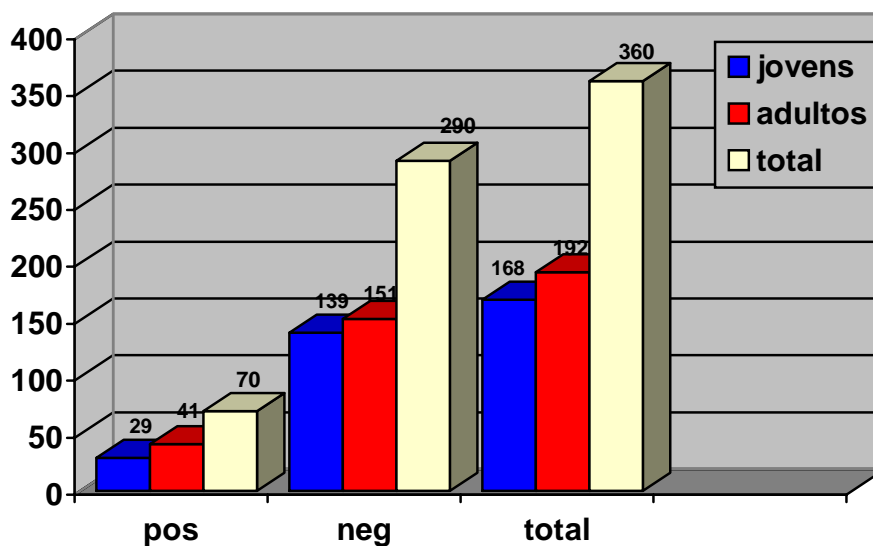


FIGURA 4 - Resultados da Hemaglutinação Indireta em soros de caprinos pertencentes aos grupos jovens e adultos.

4.1.2. Reação de Imunofluorescência Indireta

Através da Reação de Imunofluorescência Indireta foram encontrados anticorpos para *Toxoplasma gondii* em 108 (30,0%) do total de 360 amostras de soros de caprinos coletadas em capris da região da Grande Porto Alegre. A variação dentro do intervalo de confiança de 95% vai de 25,3% a 34,7%.

A Tabela 3 demonstra os resultados encontrados agrupados de acordo com a variável gênero.

TABELA 3 – Os resultados sorológicos (IFI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, de acordo com a variável gênero.

Gênero	Positivos	Negativos	Total
Machos	52 14,44%	121 33,61%	173 48,05%
Fêmeas	56 15,56%	131 36,39%	187 51,94%
Total	108 30,00%	252 70,00%	360 100%

O teste Exato de Fisher aplicado aos dados da tabela 3 revelou não haver diferença significativa na frequência de anticorpos para o *T. gondii* entre machos e fêmeas ($p = 1.000$).

Os resultados detectados pela IFI nos grupos de machos e fêmeas estão demonstrados na figura 5.

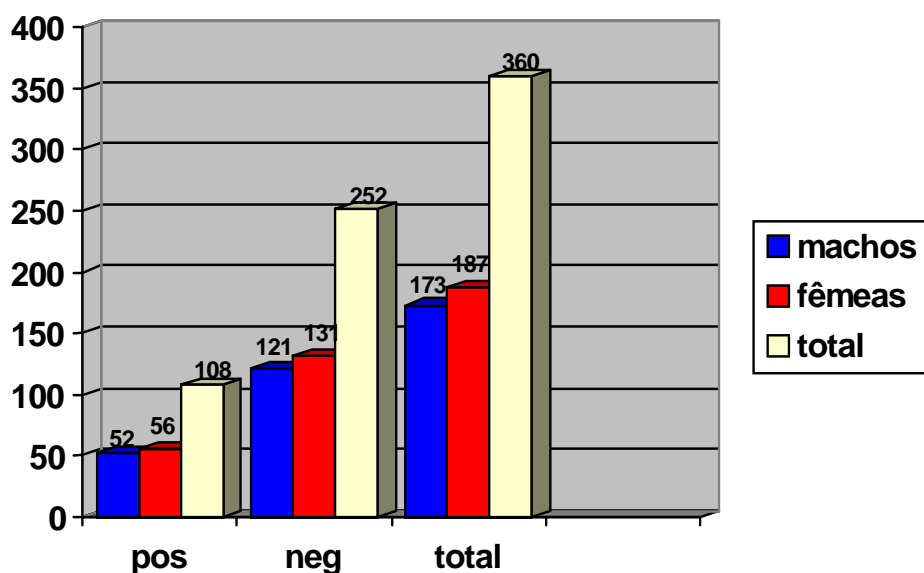


FIGURA 5 - Resultados da Imunofluorescência Indireta em soros de caprinos pertencentes aos grupos machos e fêmeas.

TABELA 4 - Os resultados sorológicos (IFI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da Grande Porto Alegre de acordo com a variável idade.

Idade	Positivos	Negativos	Total
Jovens	47 13,06%	121 33,61%	168 46,67%
Adultos	61 16,94%	131 36,39%	192 53,33%
Total	108 30,00%	252 70,00%	360 100%

O teste Exato de Fisher aplicado aos dados da tabela 4 demonstrou não haver diferença significativa na frequência de anticorpos para o *T. gondii* entre jovens e adultos ($p= 0,4894$).

Os resultados detectados pela IFI nos grupos de jovens e adultos estão demonstrados na figura 6.

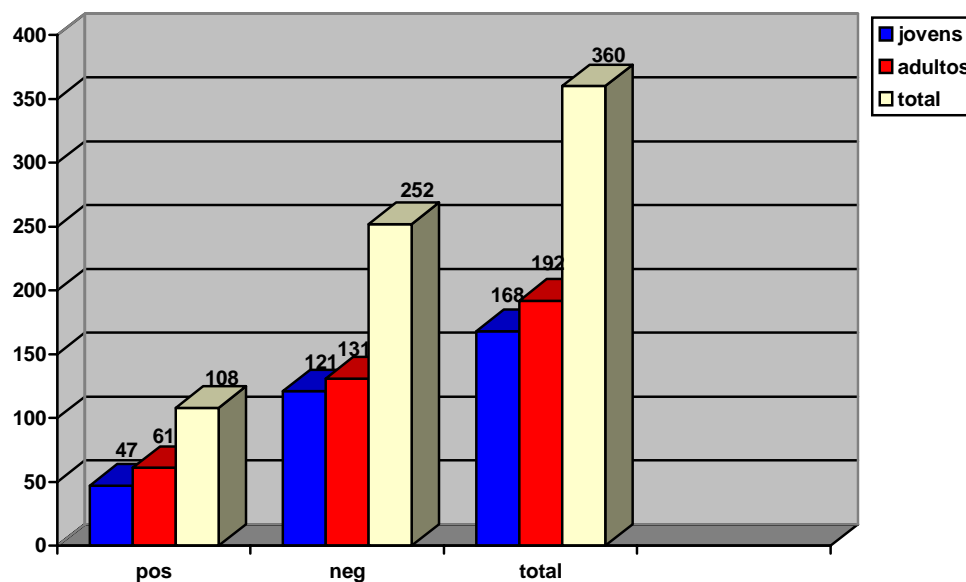


FIGURA 6 - Resultados da Imunofluorescência Indireta em soros de caprinos pertencentes aos grupos de jovens e adultos.

4.1.3. Comparação entre as técnicas de Hemaglutinação Indireta e Imunofluorescência Indireta.

A Figura 7 representa, em números absolutos, os resultados obtidos através das técnicas de HAI e IFI para a pesquisa de anticorpos da classe IgG em 720 análises sorológicas de caprinos, independente de qualquer grupo.

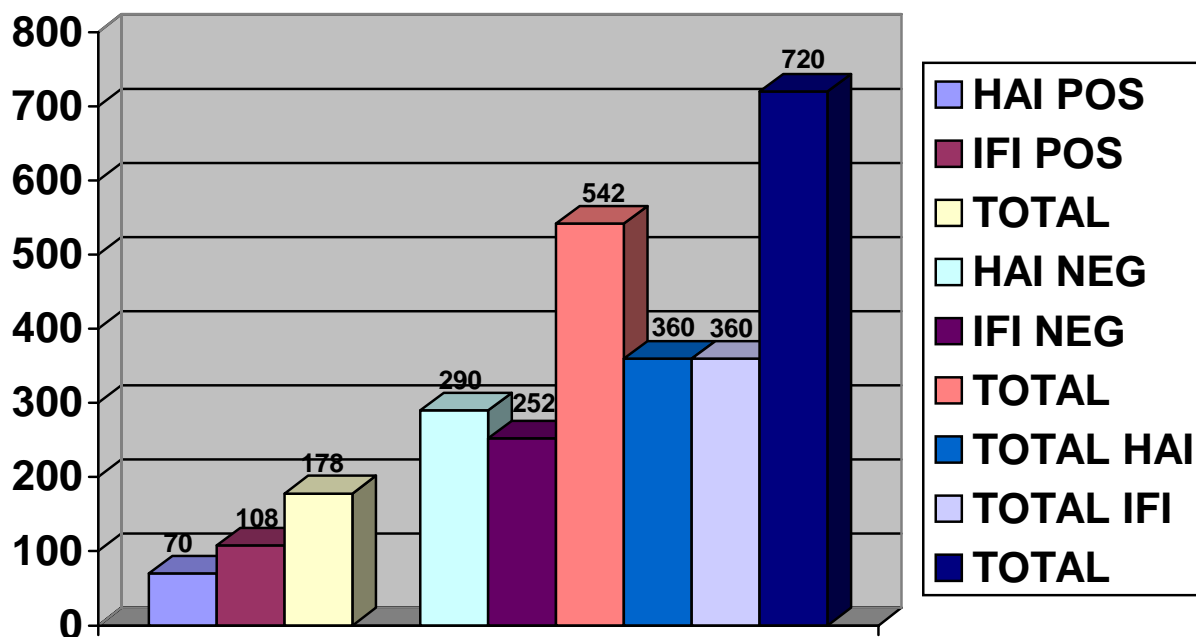


FIGURA 7 – Comparação, em números absolutos, entre as técnicas de HAI e IFI para a detecção de anticorpos para *T. gondii* em soros de caprinos.

TABELA 5 - Comparação entre as técnicas de HAI e IFI para o diagnóstico da toxoplasmose caprina

	HAI	IFI	Total
Positivos	70	108	178
Negativos	290	252	542
Total	360	360	720

O teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 4 demonstrou uma associação significativa entre os resultados obtidos com as duas técnicas ($p = 0,0014$)

Quando trabalhamos com resultados pareados, os mesmos podem ser apresentados como na tabela que se segue (tabela 6).

TABELA 6 - Resultados detectados pela HAI e IFI em soros de 360 caprinos, de acordo com a concordância dos resultados

	HAI positivos	HAI negativos	Total
IFI positivos	55 15,27%	53 14,72%	108 30,00%
IFI negativos	15 4,16%	237 65,84%	252 70,00%
Total	70 19,44%	290 80,56%	360 100%

O Teste de McNemar aplicado aos dados da tabela 6 detectou uma associação significativa entre as duas técnicas diagnosticas ($p < 0,0001$). Ainda, de acordo com os dados encontrados, 123 soros (55+15+53) dos 360 examinados reagiram em ambas ou em apenas uma das reações. Do total de 360 soros 292 foram concordantes em seus resultados perfazendo um total de 81,1% de concordância, assim como 68 soros (15+53) apresentaram resultados diferentes (18,9%).

O índice de co-positividade para a técnica da Hemaglutinação Indireta foi de 78,6% (55 / 70) e de co-negatividade foi de 81,7% (237 / 290).

O índice Kappa utilizado para medir o grau de concordância real, acusou um valor igual a 0,5 que evidencia uma concordância moderada entre as duas técnicas utilizadas.

4.1.4. Perfil das propriedades participantes do inquérito epidemiológico:

CARACTERISTICAS APONTADAS	%
1. Atividade pecuárias da propriedade:	
a) somente caprinocultura	100%
b) caprinocultura e outras	0%
2.Ciclo de criação dos caprinos:	

a) contínuo	100%
b) intermitente	0%
3. Tipo de manejo empregado na propriedade:	
a) pastejo ao ar livre	0%
b) confinamento total	0%
c) confinamento parcial	100%
d) outro	0%
4. Número de caprinos na propriedade:	
a) mais de trinta	100%
b) menos de trinta	0%
5. Presença de roedores na propriedade:	
a) sim	100%
b) não	0%
6. Presença de gatos na propriedade:	
a) sim	25%
b) não	75%
7. No caso de afirmativa a resposta anterior, especificar quantos gatos:	
a) de 1 a 5	100%
b) de 6 a 10	0%
c) mais de 10	0%
d) muitos (não sabe quantos)	0%
8. Métodos de controle de roedores:	
a) ativos (produtos químicos, armadilhas, destruição de tocas)	75%
b) passivos (uso de gatos e/ou depósitos a prova de roedores)	12,50%
c) combinação dos dois métodos	12,50%
9. Os gatos tem acesso aos caprinos?	
a) sim	12,50%
b) não	87,50%
10. Os gatos tem acesso aos alimentos e a água servida aos animais?	
a) sim	12,50%
b) não	87,50%
11. Produção de laticínios na propriedade:	
a) sim	25%
b) não	75%

12. Laticínios produzidos são utilizados para consumo e/ou vendas:	
a) sim	12,50%
b) não	87,50%
13. Existência de casos de toxoplasmose animal ou humana na propriedade:	
a) sim	0%
b) não	100%
14. Existência de casos de toxoplasmose na região:	
a) sim	12,50%
b) não	87,50%

O perfil das propriedades participantes do inquérito epidemiológico demonstrou que 100% das propriedades entrevistadas desenvolvem exclusivamente a caprinocultura, com um ciclo contínuo de criação e utilizando o sistema de confinamento parcial (pastejo e arraçoamento).

Os gatos estão presentes em 25% das propriedades e nestas se apresentam em número de 1 a 5 animais.

Quanto aos métodos de controle de roedores, 75% usam métodos ativos (produtos químicos, armadilhas, destruição de tocas), 12,5% usam métodos passivos (gatos e/ou depósitos a prova de roedores) e 12,5% usam a combinação dos dois métodos. Em 87,5% das propriedades os felinos não tem acesso aos caprinos e em 12,5% delas os gatos tem acesso aos alimentos e água fornecidos aos caprinos. Em 25% das propriedades existe produção de laticínios e destas 12,5% utilizam os laticínios para consumo próprio e/ou para venda direta. 87,5% das propriedades desconhecem casos de toxoplasmose na região.

4.2. Discussão

A utilização da técnica de Imunofluorescência Indireta no diagnóstico, inquérito ou levantamento sorológico da toxoplasmose parece perfeitamente determinada (SUZUKI; SUTO; FUJITA, 1965; COUTINHO et al., 1970; MORENO; MARTINEZ-GOMES; HERNANDEZ-RODRIGUES,1985) sendo de aceitação universal, tanto para a espécie humana como para outras espécies animais, por ser considerada de fácil realização, de grande sensibilidade, bastante econômica e praticamente isenta de problemas de infecção acidental dos laboratoristas (ISHIZUKA; DÁNGELINO; SOUZA, 1986).

A frequência global de anticorpos para *T. gondii* em caprinos detectada através das técnicas da HAI e IFI, no presente trabalho se equipara a de outras regiões do país como a Bahia, onde é de 28,9% (GONDIM et al., 1999). Poderá ser considerada baixa se for comparada a da região metropolitana de Belo Horizonte, MG que apresenta uma soroprevalência de 92,4% (CHIARI et al., 1987; GONDIM et al., 1999; FIGUEIREDO et al., 2000) e inclusive com a de outros países emergentes como Uganda com 38% (BISSON et al., 2000) e Ilhas Canárias com 63,3% (RODRIGUEZ & PONCE et al.,1995). Porém, se for confrontada com a de outras espécies domésticas em nosso Estado, será considerada bastante elevada (ARAUJO et al., 1984)

Nas amostras submetidas à técnica da HAI e IFI, no que diz respeito a variável gênero, ao aplicar-se o Teste Exato de Fisher, observou-se não haver uma associação significativa entre o grupo de machos e o grupo de fêmeas. Resultados semelhantes foram observados em trabalhos realizados com caprinos em Londrina, Estado do Paraná (SELLA et al., 1994) e em Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais (MACHADO & LIMA, 1987). Machado e Lima também reportam ser o percentual de caprinos reagentes, maior nos animais adultos que nos jovens, porém os níveis de anticorpos não variam segundo as faixas etárias.

A determinação do “cut off” para os títulos da IFI se baseou em trabalhos sobre soroprevalência para *T. gondii* em caprinos e ovinos onde esta técnica foi empregada. As amostras dos soros examinados que mostraram reatividade em diluições iguais ou maiores que 1:64 foram consideradas positivas. (O'DONOGHUE et al.,1987; HAMESHI-FESHARKI, 1996; NIETO & MELENDEZ, 1998)

Araújo et al. (1984) coletaram 118 amostras de soros de caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, RS, objetivando avaliar a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* nestes animais. O método sorológico utilizado foi o da Hemaglutinação Indireta, apresentando 16,1% de soropositivos com a seguinte distribuição: 10,2% com título de 1:64; 2,5% com 1:256; 2,5% com 1:1.024 e 0,9% com 1:4.096. Segundo os autores, estes resultados apresentaram números superiores ao de 10,0% registrado na Bahia (Estado onde a caprinocultura é intensamente praticada) por Amaral et al. (1978), na época, único trabalho publicado no Brasil sobre toxoplasmose caprina, segundo Costa (1980). Os autores também citam o fato de a espécie caprina ter apresentado maior prevalência que outras espécies já estudadas no Rio Grande do Sul, como bovinos, ovinos e suínos.

Chiari, Lima e Antunes (1985) compararam as reações de Sabin-Feldman (RSF) e Imunofluorescência Indireta (IFI), puderam concluir que a capacidade de detectar anticorpos para *Toxoplasma gondii* da IFI foi significativamente mais elevada. Também não foi observada correspondência entre os títulos obtidos através da RSF e IFI.

Em um trabalho de Chiari et al.(1987) onde foi avaliada a soro-epidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais em função da origem dos rebanhos (urbanos, peri-urbanos e rurais), foram coletados soros de 343 caprinos e submetidos a técnica de IFI. Na análise dos resultados pode-se confirmar a diferença pouco significativa entre as variáveis gênero e idade em todas as três segmentações da amostra, porém essa diferença foi significativa no tocante a procedência do rebanho, onde observou-se um percentual de soropositivos de 92,4% para os rebanhos urbanos, 70,0% para os peri-urbanos e 32,0% para os rebanhos rurais.

Machado e Lima (1987) realizaram uma pesquisa onde buscavam a frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração em Minas Gerais. A frequência de caprinos reagentes foi determinada pela reação de Imunofluorescência Indireta. Os autores concluíram que a frequência da toxoplasmose está associada a forma de exploração dos animais e que o percentual de caprinos reagentes é maior nos adultos que nos jovens. Também não encontraram associação entre gênero e índice animais positivos e a ocorrência de títulos não está associada a sintomatologia clínica.

Ruppaner et al. em 1978, ao avaliarem a prevalência de anticorpos para *T. gondii* em capris na Califórnia, observaram que 23% dos animais foram soropositivos. Na avaliação foram consideradas variáveis como gênero, idade e procedência do rebanho. A variável idade, demonstrou ser estatisticamente significativa com um nível de 3% positividade para animais jovens e 43% para animais adultos. Quanto ao gênero, os autores observaram um maior número de animais soropositivos entre as fêmeas (26%) que entre os machos (9%), sendo um dado estatisticamente significativo, o que vai de encontro aos resultados obtidos no presente trabalho. A técnica empregada pelos autores foi a HAI usando diluições de 1:64 a 1:4.096. Nestes resultados, há que se considerar ainda, as demais variáveis admitidas como procedência e número de animais dos rebanhos, que não foram aqui discutidas.

Figueiredo et al. em Uberlândia, Minas Gerais (2001) realizaram um estudo comparativo entre as técnicas da IFI, HAI e ELISA para determinar a prevalência de anticorpos para *T. gondii* em 174 soros de caprinos considerando a reatividade das amostras em diluições maiores ou iguais a 1:64 como “cut off” para os títulos. Foi observada uma soro-prevalência global de 18,4% nos três testes com uma correlação altamente significativa entre eles. Isso permitiu-lhes concluir que os testes são altamente concordantes e apropriados para análises epidemiológicas de *T. gondii*. Em nosso experimento, obtivemos um grau de concordância real de 0,5 que evidencia uma concordância apenas moderada entre as duas técnicas sorológicas (HAI e IFI). Dessa forma, a HAI utilizada em caprinos deve ser avaliada cuidadosamente e, sempre que possível, associa-la à IFI.

Com o propósito de estudar a toxoplasmose em caprinos leiteiros na micro-região de Londrina, no Paraná, Sella et al.(1994) colheram 153 amostras de soro em oito propriedades leiteiras e concomitantemente preencheram fichas epidemiológicas. A técnica utilizada foi a IFI, com um “cut off” de 1:64 para a avaliação dos títulos. A frequência de soro reagentes observada foi de 30,71% nas diversas categorias zootécnicas analisadas. Diferenças estatísticas foram observadas apenas entre as faixas etárias de jovens e adultos, onde a frequência de soropositivos aumenta com a idade e não sendo significativas nas demais categorias zootécnicas como reprodutores, fêmeas em lactação, em gestação e fêmeas vazias. Estes resultados concordam parcialmente com os obtidos em nossas

amostras, onde revelou-se não haver diferença significativa na frequência de anticorpos para o *T. gondii* tanto para as categorias machos e fêmeas como para a de jovens e adultos.

Em um outro trabalho realizado em São Paulo por Silva, Cutolo e Langoni (2002), foram comparadas as técnicas da IFI e MAD (Método de Aglutinação Direta) na detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de diversas espécies domésticas, entre elas, a caprina. Foram examinadas 100 amostras de soros de cada espécie e para os caprinos foi observada uma taxa de 8,0%, sendo a mais baixa dentre as envolvidas no estudo. A concordância de resultados positivos entre os dois métodos sorológicos variou de 63 a 88% , enquanto a concordância de resultados negativos variou de 94 a 96%. Da mesma forma, não foram encontradas diferenças significativas entre os resultados das técnicas para as diferentes espécies. A análise estatística dos resultados deste experimento demonstrou a equivalência entre as duas técnicas sorológicas utilizadas.

5. CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente trabalho, permitem concluir que:

1. Os caprinos abatidos na região estudada podem ser considerados uma fonte de transmissão de *Toxoplasma gondii* para humanos, quando sua carne for consumida crua ou mal cozida e seu leite consumido “in natura”.
2. A análise dos perfis das propriedades participantes do inquérito epidemiológico corrobora a possibilidade de que os gatos andarilhos com acesso a ração e água ou pasto dos capris, possam ser considerados fontes de infecção para os animais ali criados.
3. As técnicas da Hemaglutinação Indireta e da Imunofluorescência Indireta apresentam uma concordância moderada para a detecção de anticorpos para *T. gondii* em soros de caprinos
4. A técnica da Hemaglutinação Indireta deve ser utilizada com cautela na espécie caprina e, sempre que for possível, associada com a reação de Imunofluorescência Indireta .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. Scientific Publication n. 503 Pan American Health Organization/World Health organization, Washington – USA, 1987, 963p.

A CAPRINOCULTURA. Disponível em: <http://goatweb.com/caprinocultura.asp>. Acesso em: 21 de outubro de 2003.

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

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

AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E.A.S. de; LEVI, G.C.; DUARTE, M.I.S. **Toxoplasmose**. São Paulo, Sarvier, 1995, 159p.

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

ARAUJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de caprinos da Região da Grande/RS. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, n. 12, p.35 – 40, 1984.

ARAUJO, W.N.; SILVA, A.V. da; LANGONI, H. Toxoplasmose: uma zoonose – realidade e riscos. **Cães e Gatos**, Porto feliz – SP, n. 79, Ano 13, p. 20 – 27, 1998.

BISTNER, S.I. & FORD, R.B. **Manual de Procedimentos Veterinários & Tratamento de Emergência**. 6^a. ed., São Paulo: Roca Ltda, 1997, 914p.

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

BISSON, A.; MALEY, S.; RUBAIRE-AKIKI, C.M.; WASTLING, J.M. The soroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic Goats in Uganda, **Acta Tropica**, v.76, n.1, p. 33 – 38, 2000.

CAMARGO, M.E. Alguns aspectos atuais do diagnóstico de laboratório da toxoplasmose. **Na. Acad. Nac.Méd**, v. 155, n.4, p. 236 – 239, 1995.

CAMARGO, M.E. Toxoplasmose: diagnóstico sorológico. **Bol. Méd. Lab. Bronstein**, Porto Alegre, ano V, jan/fev, 1996, 4p.

CHEMELLO, D.; ECKERT, G.U.; TEIXEIRA, C.G. Imunidade a Parasita. In: SCROFERNEKER, M.L. & POHLMANN, P.R. **Imunologia Básica e Aplicada**. Porto Alegre: Sagra Luzatto. 1998. 373p.

CHIARI, C de A.; LIMA, J.D. & ANTUNES, C.M. de F. Reação de imunofluorescência indireta e de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zoot.**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 121 – 129, 1985.

CHIARI, C. de A.; LIMA, J.D.; LIMA, W dos S.; ANTUNES, C.M. de F. Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. **Arq. Bras. Vet. Zoot.**, Belo Horizonte, v. 39, n.4, p. 587 – 609, 1987.

CORCUERA, M.T.; LOZANO, J.; LOPEZ, R-F. Estudio comparativo de las distintas técnicas serológicas utilizadas para el diagnóstico de la toxoplasmosis. **Rev. San. Hig. Plub.** n. 55, p. 1045 – 1059, 1981.

COSTA, A.J. Toxoplasmose em ruminantes domésticos. In: II Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Fortaleza – CE, 1980. **Anais**: Fortaleza, 1980, p. 145 – 165.

COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de ; MALVAR, G.S.; FERREIRA, L.F. Análise comparativa entre as sensibilidades da Reação Indireta de Anticorpos Fluorescentes e da Reação de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos séricos para toxoplasmose. **Ver. Soc. Bras Méd. Trop.**, Rio de Janeiro, v. IV, n. 5, p. 315 – 325, 1970.

D´ANGELINO, J.L.; ISHIZUKA, M.M. Toxoplasmose suína. I. Inoculação experimental com taquizoitos de *Toxoplasma gondii* por via intraperitoneal. Evolução de anticorpos revelados pelas provas de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. **Bol. Of. Sanit. Panam.** v. 100, n. 4, p. 400 – 410, 1986b.

DENKERS, E.Y.; CASPAR, P. & SHER, A. *Toxoplasma gondii* possesses a superantigen activity that selectively expands murine T cell receptor V B5 – bearing CD8+ lymphocytes. **J. Exp. Med.**, v. 180, p. 985 – 994, 1994.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **Inter. J. Parasit.**, n. 28, p. 1019 – 1024, 1998a.

DUBEY, J.P. A review of toxoplasmosis in pigs. **Vet. Parasit.**, n. 19, p. 181 – 223, 1986.

DUBEY, J.P. Diagnosis of livestock abortion due to *Toxoplasma gondii*. **Laboratory diagnosis of livestock abortion**. 3th. Edition. Edited by Clyde a. Kirkbird, Iowa State University Press: Ames, Iowa, 1990, 260p.

DUBEY, J.P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocyst for cats. **J. Parasit.**, v. 82, n. 6, p. 957 – 961, 1996.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Vet. Parasit.** n. 84, p. 349 – 367, 1999.

DUBEY, J.P. Serologic prevalence of toxoplasmosis in cattle, sheep, goats, pigs, bison and elk in Montana. **JAVMA**, v. 186, n. 9, 1985.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **JAVMA**, v. 205, n. 11, p. 1593 – 1598, 1994.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis, sarcocystis, isosporosis and cyclosporiasis. In: PALMER, R.S.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. **Zoonosis**. Oxford Medical Publication. 1998b. 948p.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 17, n. 6, p. 1389 – 1404, 1987.

DUBEY, J.P. & BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of Animals and Man**. CCR Press: Boca Raton, Florida. 1988, 218p.

DUBEY, J.P. & SHARMAN, S.P. Prolonged excretion of *Toxoplasma gondii* in semen of goats. **Am. J. Vet. Res.** , v. 41, n.5, p. 794 – 795, 1980.

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

DUBEY, J.P.; SUNDBERG, J.P. & MATIUCK, S.W. Toxoplasmosis associated with abortion in goats and sheeps in Connecticut. **Am. J. Vet. Res.**, v. 42, n. 9, p. 1624 – 1626, 1981c.

DUBEY, J.P. Mouse pathogenicity of *Toxoplasma gondii* isolated fro a goat, **Am. J. Vet. Res.**, v. 41, 427p., 1980.

DUBEY, J.P. Repetead transplacental transfer of *Toxoplasma gondii* in dairy goats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 186, p. 1220 – 1221, 1982.

DUBEY, J.P. Epizootic toxoplasmosis associated with abortions in dairy goats in Montana. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 178, 661p. 1981.

DUBEY, J.P.; SHARMA, S.P.; LOPES, C.W.G.; WILLIAMS, J.F.; WILLIAMS, C.F.S.; WEISBRODE, S.E. Caprine toxoplasmosis: abortion, clinical signs and distribution of

toxoplasma in tissues of goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Am. J. Vet. Res.**, v. 41, 1072p., 1980.

DUBRUMETZ, J. F. Biologie du toxoplasme et toxoplasmose. **Annales de L'institut Pasteur**, Paris, v. 10, n. 1, p. 102 – 112, 1999.

FELDMAN, H. & MILLER, L. Serological study of toxoplasmosis prevalence. **Am. J. Hyg.**, v. 64, p. 320 – 335, 1956.

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

FIGUEIREDO, J.F.; SILVA, D.A.O.; CABRAL, D.D.; MINEO, J.R. Soroprevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos através das técnicas da hemaglutinação indireta, imunofluorescência e teste imunoenzimático, na região de Uberlândia, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 687 – 692, 2001.

FRENKEL, J.K. Immunity in toxoplasmosis. **Patho. Bulletin**, v. 19, n. 4, p. 354 – 367, 1985.

FRENKEL, J.K. La inmunidad de la toxoplasmosis. **Bol. Of. Sanit. Pam.**, v. 100, n. 3, p. 283 – 298, 1986.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R. & FOCCACIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo, Atheneu, 1997, 1803p.

FRENKEL, J.K. & DUBEY, J.P. Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. **J. Infect. Diseases**, v. 126, n. 6, p. 664 – 673, 1972.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stage identified as coccidian oocysts. **Science**, v. 167, p. 893 – 986, 1970.

FREYRE, A. **Toxoplasmosis en las especies domesticas y como zoonosis**. Montevideo: Departamento de Publicaciones de la Universidad de la Republica do Uruguay. 1989, 332p.

GAGNE, S.S. Toxoplasmosis. **Vet. Parasit.**, v. 8, n. 3, p. 122 – 126, 2001.

GARCIA, J.L.-NAVARRO, C.E.K. & PACHALY, J.R. **Manual de Hematologia Veterinária** 1^a. ed., São Paulo, Livraria Varela, 1994.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. de. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos e sua correlação com humanos,

felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná – Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, p. 91 – 97, 1999c.

GARRIDO, J.A. **Toxoplasmosis**, Editorial Marban, Madrid, 1978, 315p.

GUHL, F.; GONZALES, A.C.; MARINKELLE, C.J.; SANCHEZ, N. de. Estudio comparativo entre las pruebas de inmunofluorescencia indirecta y ELISA (Enzyme-linked immunosorbente assay) para toxoplasmosis en 877 soros. **Rev. Lat. Am. Microb.**, n. 23, p. 235 – 238, 1981.

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

GRÜNSPAN, E.D. **Isolamento de *Toxoplasma gondii* em praça pública da cidade de Santa Maria , RS, Brasil**. Santa Maria – RS. 68p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Maria, 1996.

HAMESHI-FESHARKI, R. Soroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goat in Iran. **Vet. Parasitol.**, n. 61, p. 1 – 3, 1996.

HUTCHISON, W.M. The nematode transmission of *Toxoplasma gondii*. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, n. 61, p. 80 – 89, 1967.

IBGE – Censo 2000. Disponível em: <http://ibge.gov.br/cidadesat/default.php> . Acesso em 30 de julho de 2003.

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

JAWETZ, E.; MELNIK, J.L.; ADELBERG, E.A.; BROOKS, G.F.; BUTEL, J.S.; NORSTON, L.N. **Microbiologia Médica**. 18^a. ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1991, 518p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10^a. ed., Sao Paulo: Atheneu, 2000, 428p.

KIMBALL, A.C.; KEAN, B.H.; FUCHS, F. Toxoplasmosis: risk variations in New York City obstetrics patients. **Am. J. Obstet. Gynecol.** v. 119, 208p., 1974.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, S.D.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. **Color Atlas and textbook of diagnostic microbiology**. 4^a. Ed., Philadelphia, Pennsylvania, J.B. Lippincot Company. 1992, 1154.

KOSKINIEMI, M.; LAPPALAIENEN, M.; HEDMAN, K. Toxoplasmosis needs evaluation. **Am. J. Diseases Children**, v. 143, p. 724 – 728, 1989.

- LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis felina. **Waltham focus**, v. 4, n. 4, p. 2 – 8, 1994.
- LARSSON, C.D. Diagnóstico laboratorial da toxoplasmose – reações utilizadas e interpretação clínica. **Cães e Gatos**, Porto Feliz, jan/fev., p. 5 – 11, 1985.
- LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B.M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINPELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKI, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **J. Protozool.**, v. 27, n. 1, p. 37 – 58, 1980.
- LEVINE, N.D. **Veterinary Protozoology**. Ames, Iowa State University Press, EUA, 1985.
- LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Vet. Parasitol.**, n. 73, p. 27 – 33, 1997.
- MACEDO, V. Toxoplasmose. In: CASTRO, L.P.; CUNHA, A.L.; REZENDE, J.M. **Protozooses Humanas**, Cap. 10, p. 153 – 170, São Paulo, fundação BYK, 1994, 226p.
- MACHADO, T.M.M. & LIMA, J.D. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, Belo Horizonte, v. 39, n. 2, p. 255 – 264, 1987.
- MARQUES, L.C. & COSTA, A.J. Infecção experimental de ovinos com oocistos e cistos de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909. In: XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Balneário Camboriú, SC, 1982. **Anais**, Balneário Camboriú, 1982, p. 202.
- MATUKUMA, C.A. & RICHTZENHAIM, W.M. Testes sorológicos na clínica de pequenos animais. **Clinica Veterinária**, São Paulo, n. 8, p.20 – 23, 1997.
- MORENO, T.; MARTINEZ-GOMES, F.; HERNANDEZ-RODRIGUES, S. Toxoplasmosis in pigs in Córdoba, Spain. **An. Trop. Med. Parasitol.**, v. 79, p. 271 – 273, 1985.
- MUNDAY, B.L. & MANSON, R.W. Toxoplasmosis as a cause of perinatal death in goats. **Austr. Vet. J.**, v. 55, p. 485 – 487, 1979.
- NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R. Resistencia do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em lingüiça de suínos. **Bol. Of. Sanit. Panam.**, v. 112, n. 2, p. 138 – 143, 1992b.
- NETO, V.A. & MARCHI, C.R. Toxoplasmose. In: CIMERMAN, B & CIMERMAN, S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. São Paulo: Atheneu, 1999, 375p.
- NIETO, S.O.; MELENDEZ, R.D. Soroprevalence of *Toxoplasma gondii* in goats from arid zones of Venezuela. **J. Parasitol.**, v. 84, p. 190 – 191, 1998.

O'DONOGHUE, P.J.; RIPLEY, M.J.; CLARKE, J.F. Serological survey for toxoplasma infections in sheep. **Austr. Vet. J.**, v. 64, n. 2, p. 40 – 45, 1987.

PHYLOGENIES AND FOSSILS. Disponível em: <http://www.geocities.com/southamericanpaleontology/>. Acesso em: 18 de outubro de 2003.

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

POWEL, C.C.; BREWER, M.; LAPPIN, M.R. Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. **Vet. Parasit.**, v. 102, p. 29 – 33, 2001.

RODRIGUEZ-PONCE, E.; MOLINA, J.M.; HERNANDEZ-RODRIGUEZ, Soroprevalence of goat toxoplasmosis on Grand Canary Islands. **Prev. Vet. Med.** V. 24, p. 229 – 234, 1995.

RUPPANNER, R.; RIEMAN, H.P.; FARVER, T.B.; WEST, G.; BEHYMER, D.E.; WIJAYASINGHE, C. Prevalence of *Coxiella burnetii* (Q fever) and *Toxoplasma gondii* among dairy goats in California. **Am. J. Vet. Res.** v. 39, 867p., 1978.

SCHANTZ, P. & McAULEY, J. Current status of food-borne parasitic zoonoses in the United States. **South. Asian J. Of Trop. Med. Publ. Hlth**, n. 22, p. 72 – 77, 1991.

SELLA, M.Z.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R.L.; SHIDA, P.N. Epidemiologia da toxoplasmose caprina: levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na região de Londrina, Paraná, Brasil. **Ver. Bras. Parasitol. Vet.** São Paulo, v. 3, n. 1, p. 13 – 16, 1994.

SILVA, A.V. & LANGONI, H. Alimentos de origem animal e a toxoplasmose humana. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 71, p. 34 – 39, 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 gondii* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 7 – 11, jan/mar., 2002.

SILVA, A.V. da.; CUNHA, E.L.P.; MEIRELES, L.R. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soropidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**. v. 33, n. 1, p. 115 – 119, jan/fev., 2003.

SLOSS, M.W.; ZAJAC, A.M.; KEMP, R.L. **Parasitologia Clínica Veterinária**. 6ª. ed., Editora Manole Ltda: São Paulo, 1999.

SUZUKI, K.; SUTO, T. & FUJITA, J. Serological diagnosis of toxoplasmosis by the indirect immunofluorescent staining. **Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.**, v. 5, n. 2, p. 73 – 85, 1965.

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

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

TROJOVSKI, A. Congenital Toxoplasmosis, 1998. Disponível em WWW [URL:http://www.trojovsky.net.toxo/](http://www.trojovsky.net.toxo/) . Acesso em 14 de julho de 2003.

WERNER, A.P.T. Avances em el diagnostico serologico de la toxoplasmosis. **Parasitol. Al Día**, v. 12, p. 33 – 39, 1988.

ANEXO 1

CALCULO DA PORCENTAGEM DE CONCORDÂNCIA

IFI	HAI		
	Positivo	negativo	total
positivo	A	B	A + B
negativo	C	D	C + D
total	A + C	B + D	A + B + C + D

Concordantes positivos = A

Concordantes negativos = D

Não concordantes = B + D sendo B falsos negativos e D falsos positivos

$$\text{Índice de co-positividade} = \frac{A}{A + B}$$

$$\text{Índice de co-negatividade} = \frac{D}{C + D}$$

$$\% \text{ de Concordância} = \frac{A + D}{A + B + C + D} \times 100$$

$A + B + C$ = Total de soros testados que foram positivos em ambos os testes, ou ao menos em um dos testes.

ANEXO 2

CÁLCULO DO ÍNDICE KAPPA

3	IFI		HAI
		positivo	negativo
	positivo	A	B
	negativo	C	D

$$\text{Concordância observada} = \frac{A + D}{A + B + C + D} = \frac{(\text{observação A}) + (\text{observação D})}{A + B + C + D} = \text{----}\%$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula A} = \frac{(A + B) \times (A + C)}{A + B + C + D} = \text{-----}$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula B} = \frac{(C + D) \times (B + D)}{A + B + C + D} = \text{-----}$$

$$\text{Probabilidade de concordância completa} = \frac{(\text{probabilidade A}) + (\text{probabilidade B})}{A + B + C + D}$$

$$\text{Kappa} = \frac{\text{Concordância observada} - \text{Probabilidade de concordância completa}}{100\% - \text{Probabilidade de concordância completa}} = \text{----}$$

Resultados:

0,0 = rara probabilidade de concordância

0,0 a 0,2 = fraca concordância

0,2 a 0,4 = regular

0,4 a 0,6 = moderada

0,6 a 0,8 = substancial

0,8 a 1,0 = concordância quase perfeita entre os testes

+ de 1,0 = concordância perfeita