

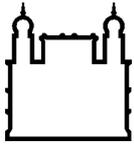
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

ESTUDO DA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* NICOLLE E MANCEAUX, 1909
EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) NO RIO DE JANEIRO

PÂMELA FIGUEIREDO PEREIRA

Rio de Janeiro
Janeiro de 2016



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

PÂMELA FIGUEIREDO PEREIRA

Estudo da Infecção por *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 em gatos domésticos (*Felis catus*) no Rio de Janeiro

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientadora: Profa. Dra. Maria Regina Reis Amendoeira

RIO DE JANEIRO

Janeiro de 2016

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

P436 Pereira, Pâmela Figueiredo

Estudo da infecção por *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 em gatos domésticos (*Felis catus*) no Rio de Janeiro / Pâmela Figueiredo Pereira. – Rio de Janeiro, 2016.

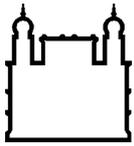
xvii, 96 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2016.

Bibliografia: f. 84-96

1. *Toxoplasma gondii*. 2. Gato doméstico. 3. Imunodiagnóstico. 4. Perfil epidemiológico. I. Título.

CDD 616.936



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: PÂMELA FIGUEIREDO PEREIRA

Estudo da Infecção por *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 em gatos domésticos (*Felis catus*) no Rio de Janeiro

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria Regina Reis Amendoeira

Aprovada em: 29 / 01 / 2016

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Filipe Aníbal Carvalho Costa- Presidente (Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz)

Prof. Dr. Otilio Machado Pereira Bastos (Universidade Federal Fluminense)

Prof. Dr. Norma Vollmer Labarthe (vice-precidencia da Fiocruz)

Suplentes:

Prof. Dr. Valmir Laurentino Silva - Revisor (Escola Nacional de Saúde Pública/Fiocruz)

Profa. Dra. Claudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior (Universidade Federal Fluminense)

Rio de Janeiro, 29 de Janeiro de 2016

**Dedico à minha mãe, por sempre me
impulsionar a vôos mais altos.**

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dr^a Maria Regina Reis Amendoeira pelos preciosos ensinamentos, conselhos científicos, paciência, dedicação e participação integral nesse trabalho, desde idas ao campo até processamento das amostras. Por ter confiado em mim para realização deste projeto e permitido ir à busca dessa conquista profissional.

À equipe do LabToxo/IOC/Fiocruz por todo auxílio em todas etapas do trabalho. Em especial aos alunos queridos Ana Letícia Santos, Ana Paula de Moura, Marcelo Vasconcellos, Mariana Seabra e Thays Euzébio por terem me acompanhado sempre que podiam nos exaustivos trabalhos de campo e por todo gesto ou palavra de conforto que me deram quando precisei. E a doutoranda Paula Bolais por contribuir no primeiro período de coleta.

À equipe do Laboratório de Parasitologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense pela colaboração na realização das técnicas coproparasitológica e por sempre me acolher de forma afetuosa.

À Prof^a Dr^a Alynne Barbosa pela amizade, apoio, conselhos, por todo ensinamento e ajuda em cada etapa realizada. Pelas prazerosas discussões e troca de conhecimento e ainda por ter sido minha energia e motivação quando me faltou.

À SEPDA por terem autorizado a realização desse trabalho e toda equipe do gatil da Fazenda Modelo que contribuiu de alguma forma na coleta de material, principalmente os tratadores que ajudou com a contenção dos gatos.

À ASSAPE por terem permitido o desenvolvimento desse projeto e ao médico veterinário Rafael Keim por ter intermediado toda essa parceria.

Ao Mauro Lúcio de Andrade, tratador dos gatos do Condomínio Península, que foi um companheiro nas cansativas capturas, contenção e coleta de amostras dos gatos, muito obrigada pelo aprendizado.

À minha turma "Mara" de mestrado pela união incrível, apoio mútuo, troca de experiência, momentos de distração e risadas. Tive muita sorte de ter conhecido vocês, que fizeram dessa caminhada mais prazerosa.

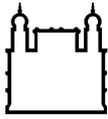
Aos meus pais e irmãos por todo carinho e compreensão, especialmente minha querida mãe por sempre me apoiar incondicionalmente e motivar em todas as minhas conquistas.

Ao meu esposo por toda dedicação, carinho, paciência, companheirismo, compreensão, por ser meu porto seguro, meu incentivador número um e participar de forma direta nesta realização profissional.

A Deus, por ter permitido chegar até onde cheguei; por ter me amparado em os momentos de dificuldade me dando força e perseverança; por ter posto na minha vida pessoas incríveis e fundamentais para minha trajetória e por todas as bençãos a mim concedida.

A todos que contribuíram de alguma forma, mas não foram citados nominalmente.

**Os grandes feitos são conseguidos
não pela força, mas pela perseverança.
(*Samuel Johnson*)**



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

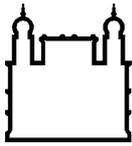
Estudo da Infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos (*Felis catus*) no Rio de Janeiro

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO MEDICINA TROPICAL

Pâmela Figueiredo Pereira

O aumento da população urbana associado a trabalho intenso contribuiu para que algumas pessoas escolhessem um animal de estimação mais independente, como o gato doméstico. Por outro lado, esta situação proporciona, por variados motivos, o abandono desses animais, elevando o número de gatos errantes e, com isso o, aumento de felinos em gatis públicos. Esses animais podem se infectar com o protozoário *Toxoplasma gondii*, que pode também infectar outros mamíferos, inclusive o homem e também aves. Em razão de serem os felinos os únicos hospedeiros definitivos de *T. gondii* e também devido a poucas informações sobre esta protozoose nas populações desses animais, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil epidemiológico da infecção por esse protozoário em gatos domésticos cativos e errantes em dois ambientes distintos da zona oeste do município do Rio de Janeiro. No período de agosto de 2014 a outubro de 2015 os gatos cativos de um gatil municipal do Rio de Janeiro e os errantes que habitam um conjunto de Condomínios na Barra da Tijuca foram capturados, identificados individualmente por *microchips* e submetidos a coletas de amostras biológicas de sangue e fezes em dois períodos distintos de no mínimo quatro meses e no máximo oito meses. Ao total foram coletadas no primeiro período do estudo 261 amostras de sangue dos gatos cativos e na segunda etapa 93 amostras de sangue e 91 de fezes. Já na população errante foram coletadas 172 amostras de sangue e fezes no primeiro período e 56 no segundo. O diagnóstico sorológico foi realizado pela hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o diagnóstico coparassitológico por meio das técnicas de centrífugo-sedimentação em tubo cônico e técnica de Sheather modificada por Huber. De forma geral, a soroprevalência evidenciada para *T. gondii* nos gatos cativos foi de 23,8% e nos errantes 18%. Dos gatos acompanhados, 18% apresentaram soroconversão, não havendo diferença estatística significativa entre os dois grupos. O maior percentual de soroconversão nos gatos cativos ocorreu no perfil de IgG negativo na primeira análise e IgG positivo na segunda, 80%. Destes animais, 15,7% apresentaram título de 1:64 e 3,6% títulos de 1:256 na segunda amostra. Todos os gatos errantes que apresentaram soroconversão possuíam títulos de IgG 1:64 na primeira análise e modificaram seu perfil sorológico para não reagente na segunda. Associando as duas populações de felinos estudadas, a copositividade observada em ambas às técnicas, HAI e RIFI foi de 6,7%. O grau de concordância entre essas técnicas foi classificado como razoável, o que demonstra a necessidade da associação de técnicas sorológicas com diferentes fundamentos. Não foi detectado oocisto com morfologia similar a *T. gondii* no material fecal dos animais. Ao avaliar de forma indireta e direta a infecção de *T. gondii* nos gatos cativos e errantes foi demonstrado um percentual de positividade moderado e baixo, respectivamente. Com a identificação individual dos gatos foi possível recapturar alguns animais para nova análise e confirmar a soroconversão em ambas as populações. Tal fato permitiu determinar a circulação epidemiológica do parasito nos ambientes estudados. Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, gato doméstico, imunodiagnóstico, perfil epidemiológico.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Study of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats (*Felis catus*) in Rio de Janeiro

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION MEDICINA TROPICAL

Pâmela Figueiredo Pereira

The increase in urban population associated with an intense workload contributed to that many people choose a more independent pet, as the domestic cat. On the other hand this situation provides, for various reasons, the abandonment of these animals, increasing the number of stray cats and, with it, up cats in catteries public. These animals can become infected by various pathogens, such as *Toxoplasma gondii*, which besides infect cats can also infect many animals like birds and other mammals, including man. Because the cats be the only definitive hosts of *T. gondii* and also due to little information on this protozoan infection in the populations of these animals, this study aimed to evaluate the epidemiology of infection with this parasite in captivity and stray domestic cats in two different environments the west of the municipality of Rio de Janeiro From August 2014 to October 2015 the captive cats a municipal cattery of Rio de Janeiro and stray cats inhabiting a set of proprietiess in Barra da Tijuca were captured individually identified by *microchips* and submitted to collects of biological samples of blood and stool in two different periods of at least four months and no more than eight months. The total were collected in the first period of the study 261 blood samples from captive cats and the second stage 93 blood samples and 91 stool. Already at the stray cats population were obtained 172 blood samples and stool in the first period and 56 in the second. Serologic diagnosis was performed by indirect hemagglutination (IHA) and indirect immunofluorescence assay (IFA) and parasitological diagnosis through the techniques of centrifugal sedimentation conical tube and Sheather technique modified by Huber. Overall, the highlighted seroprevalence of *T. gondii* in captive cats was 23.8% and stray 18%. Cats accompanied 18% seroconverted, with no statistically significant difference between the two groups. The higher percentage of seroconversion in captive cats occurred in the profile negative IgG in the first examination and positive IgG in the second, 80%. Of these animals, 15.7% had title 1:64 and 3.6% titers of 1: 256, in the second sample. All stray cats that seroconverted had titers IgG 1:64 in the first analysis and modified their serological profile for non-reactive in the second. Associating both populations studied cats, the copositividade observed in both the technical, HAI and IFAT was 6.7%. The degree of of concordance between these techniques was classified as reasonable, which demonstrates the need for an association of serological techniques on different grounds. There was no detectable oocysts with similar morphology to *T. gondii* in the fecal material of animals. When evaluating indirect and direct infection of *T. gondii* in captive and stray cats was shown a percentage of positivity moderate and low, respectively. With the individual identification of cats was possible to recapture some animals for a new analysis and confirm seroconversion in both populations. This fact allowed to determine the epidemiological circulation of the parasite in the study sites.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, domestic cat, immunodiagnosics, epidemiological profile.

ÍNDICE

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
1.1 Histórico	1
1.2 Agente etiológico	2
1.2.1 Sistemática	2
1.2.2 Morfologia	2
1.3 Ciclo Biológico	5
1.3.1 Reprodução Sexuada	5
1.3.2 Reprodução Assexuada.....	6
1.4 Toxoplasmose	8
1.4.1 Toxoplasmose humana.....	8
1.4.2 Toxoplasmose felina	10
1.5 Diagnóstico laboratorial	11
1.5.1 Detecção do parasito.....	11
1.5.2 Detecção de anticorpos (Ac) anti-T. gondii	13
1.6 Epidemiologia	15
1.6.1 Transmissão	15
1.6.2 Fatores de riscos	16
1.6.3 Soroprevalência de T. gondii em gatos domésticos	21
1.6.4 Prevalência de oocistos com morfologia compatível com T. gondii em amostras fecais	28
1.7 Prevenção e controle da Toxoplasmose em gatos	33
1.8 Tratamento em gatos sintomáticos	35
1.9 Justificativa	35
2 OBJETIVOS	36
2.1 Objetivo Geral	36
2.2 Objetivos Específicos	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Aspectos éticos	37

3.2	Desenho do estudo	38
3.3	Área de estudo.....	40
3.3.1	Fazenda Modelo	41
3.3.2	Conjunto de Condomínios Península	44
3.4	População do estudo	49
3.4.1	Fazenda Modelo - Gatos cativos	49
3.4.2	Condomínio Península - Gatos errantes.....	51
3.5	Tamanho amostral.....	52
3.6	Captura e contenção dos animais	54
3.7	Aplicação do <i>microchip</i>.....	55
3.8	Coleta de sangue.....	56
3.9	Coleta de fezes	57
3.10	Pré - processamento e armazenamento das amostras de sangue	59
3.11	Processamento das amostras séricas	59
3.11.1	Hemaglutinação indireta	59
3.11.2	Reação de imunofluorescência indireta.....	61
3.12	Pesquisa de oocistos com morfologia similar aos de <i>Toxoplasma gondii</i> nas amostras fecais dos gatos.....	65
3.12.1	Técnica de centrifugo-sedimentação em tubo cônico adaptado de Ribeiro e Furst (2012)	66
3.12.2	Técnica de Sheather (1923) modificada por Huber et al. (2003)	67
3.12.3	Leitura das amostras processadas	67
3.13	Análise e processamento estatístico dos resultados	67
4	RESULTADOS	69
5	DISCUSSÃO	75
6	PERSPECTIVAS	82
7	CONCLUSÕES	83
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

9	ANEXOS:	1
9.1	Anexo 1: Folder : "Toxoplasmose felina. O que é e como prevenir?"	1
9.2	Anexo 2: Formulário de solicitação de registro de obra autoral.....	2

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Formas ontogênica do *Toxoplasma gondii*. **A.** Taquizoíto em um lavado broncoalveolar corado com Giemsa. **B.** Cisto no cérebro de camundongo infectado 500 X. (Fonte: Robert-Gangneux & Dardé, 2012). **C.** Oocisto não esporulado. **D.** Oocisto esporulado de fezes de gato em técnica de flutuação de sacarose (Fonte: Lucio-Forster apud Elmore, 2010). **5**
- Figura 2** Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*: infecção e replicação do parasito (reprodução sexuada e assexuada) em seus respectivos hospedeiros. (Fonte: Robert-Gangneux & Dardé, 2012). **7**
- Figura 3** Fontes de infecção por *T. gondii* de origem alimentar e ambiental. (Fonte: Robert-Gangneux & Dardé, 2012). **16**
- Figura 4** Fluxograma do desenho do estudo. **39**
- Figura 5** Primeiro e segundo período de coleta. (Fonte: Alynne Silva Barbosa, 2015) **39**
- Figura 6** Representação da localização das áreas de estudo. **A.** Guaratiba onde está situado o gatil Fazenda Modelo. **B.** Barra da Tijuca onde está situado onde está situado o Condomínio Península. (Fonte: CEPERJ adaptado, 2013) **41**
- Figura 7** Imagens via satélite da localização da Fazenda Modelo. (Fonte: Google maps, 2015) **42**
- Figura 8** Ilustração do gatil Fazenda Modelo. **A.** Área do gatil subdivida por cercas de alumínio interligadas por corredor de passagem. **B.** Entrada principal do gatil e abrigos de alvenaria. **C.** Parte interna do recinto de alvenaria. **D.** Recinto de madeira tipo casinha (Fonte: Originais da Autora). **43**
- Figura 9** Ilustração do gatil Fazenda Modelo. **A.** Manilhas concreto. **B.** Árvore e cerca com chapa de alumínio na parte superior. **C.** Árvores com chapa de alumínio (Fonte: Originais da Autora). **44**
- Figura 10** Imagens via satélite da localização da Fazenda Modelo. (Fonte: Google maps, 2015) **45**
- Figura 11** Ilustração do Península. **A.** Trilha ecológica. **B.** Lagoa da Barra da Tijuca e mata costeira. **C.** Área de manguezal em recuperação. **D.** Gato errante na trilha ecológica (Fonte: Originais da Autora). **46**
- Figura 12** Ilustração do Península. **A.** Tubos de aço na trilha ecológica. **B.** Manilha de concreto com comedouro no seu interior. **C.** Ilha de gato com casinha de plástico

e comedouro no interior e bebedouro tipo <i>nipple</i> no exterior (Fonte: Originais da Autora).	46
Figura 13. Ilustração das ilhas de gato do Península. A. Ilha Fit. B. Ilha Green Bay. C. Ilha Royal Green. D. Ilha Atmosfera (Fonte: Originais da Autora).	47
Figura 14 Ilustração das ilhas de gato do Península. A. Ilha Jardim das Esculturas. B. Ilha Benini. C. Ilha Jardim do Zen. D. Ilha Aquarela (Fonte: Originais da Autora).	48
Figura 15 Ilustração das ilhas de gato do Península. A. Ilha sede Assape. B. Ilha Way (Fonte: Originais da Autora).	48
Figura 16 Mapa do Península com as localizações das ilhas de gatos (Fonte: ASSAPE adaptado, versão 8. 2008).	49
Figura 17 Gatos domésticos cativos do gatil estadual Fazenda Modelo. (Fonte: Originais da Autora).	50
Figura 18 Gatos errantes do condomínio Península (Fonte: Originais da Autora).	52
Figura 19 A. Armadilha na casinha da ilha Fit. B. Armadilha na casinha da ilha Jardim das Esculturas (Fonte: Originais da Autora).	54
Figura 20 Gato retornando para sua ilha no Conjunto de Condomínio Península (Fonte: Originais da Autora).	55
Figura 21 Ilustração da aplicação do <i>microchip</i> . A. <i>Microchip</i> agulhado acoplado no aplicador e leitor específico. B. Aplicação do <i>microchip</i> na região dorsal do animal. C. Leitura. (Fonte: Originais da Autora).	56
Figura 22 Ilustração da coleta de sangue no Península. A. Material da coleta de sangue. B. Punção da veia femoral e/ou poplítea C. Coleta de sangue do membro posterior esquerdo do gato. D. Transferência do sangue da seringa para tubo sem anticoagulante previamente identificado (Fonte: Originais da Autora).	57
Figura 23 Ilustração da coleta de fezes no Península. A. Material da coleta de fezes. B. Coleta com auxílio de sonda lubrificada com óleo mineral acoplada a seringa com solução fisiológica. C. Transferência do material fecal para tubo cônico identificado. (Fonte: Originais da Autora)	58
Figura 24 Ilustração representativa da interpretação de resultados na HAI. (Fonte: Wiener Lab, 2000)	61
Figura 25 Técnica de Hemaglutinação indireta realizada no LabTOXOP. A. Kit Toxotest da Wiener Lab. B. Diluição das amostras. C. Controle positivo e negativo. (Fonte: Originais da Autora)	61

Figura 26 Representação gráfica das lâminas de microscopia de imunofluorescência com as respectivas diluições. (Fonte: LabTOXOP, 2011). **64**

Figura 27 Ilustração da Técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta. **A.** Diluição das amostras. **B.** Transferência das amostras diluídas para as lâminas sensibilizadas. **C.** Lâminas em câmara úmida. **D.** Aplicação do conjugado preparado. **E.** Aplicação da glicerina. **F.** Montagem das lâminas com lamínula. (Fonte: Originais da Autora). **65**

Figura 28 Pré-preparo das amostras antes da realização das técnicas. **A.** Bancada do laboratório sendo preparada para etapa de filtração. **B.** Aliquotagem do filtrado fecal em tubos de fundo cônico. (Fonte: Originais da Autora) **66**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Resultados sorológicos das técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos domésticos cativos e errantes do Rio de Janeiro. Unificando os resultados das duas análises do mesmo animal, em dois períodos distintos ocorridos no período de agosto de 2014 a outubro de 2015.....	69
Tabela 2 Comparação dos resultados obtidos nas técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em duas populações de gatos domésticos do Rio de Janeiro. No período de agosto de 2014 a outubro de 2015, no gatil Fazenda Modelo e no conjunto de condomínios Península.....	70
Tabela 3 Associação entre os resultados obtidos pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou hemaglutinação indireta (HAI) para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> e o sexo em duas populações de gatos domésticos do Rio de Janeiro.	71
Tabela 4 Associação entre os resultados obtidos pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou hemaglutinação indireta (HAI) para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> e a idade em duas populações de gatos domésticos do Rio de Janeiro.	71
Tabela 5 Frequência de títulos de anticorpos IgG para <i>Toxoplasma gondii</i> detectados na reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em dois momentos distintos de coletas de sangue em população de gatos domésticos cativos do Rio de Janeiro.	72
Tabela 6 Frequência de títulos de anticorpos IgG para <i>Toxoplasma gondii</i> detectados na reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em dois momentos distintos de coletas de sangue em população de gatos domésticos errantes do Rio de Janeiro.....	73
Tabela 7 Comparação da frequência de soroconversão para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou hemaglutinação indireta (HAI) entre populações de gatos domésticos cativos e errantes no município do Rio de Janeiro.....	73

Tabela 8 Frequência de soroconversão para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em grupos de gatos domésticos cativos e errantes no município do Rio de Janeiro.....	74
Tabela 9 Parasitos gastrintestinais diagnosticados populações de gatos domésticos cativos e errantes no município do Rio de Janeiro.....	74

INTRODUÇÃO

1.1 Histórico

O protozoário *Toxoplasma gondii*, agente etiológico da toxoplasmose foi descrito pela primeira vez no Brasil, em São Paulo, parasitando coelhos de laboratório, no qual foram observadas alterações histopatológicas e formas parasitárias livres e intracelulares em diversos tecidos dos animais infectados (Splendore, 1909). Em outubro de 1908 no Instituto Pasteur na Tunísia, um micro-organismo semelhante ao observado por Splendore, foi evidenciado em células mononucleares do baço e do fígado de um roedor norte-africano, *Ctenodactylus gondii*. Este protozoário foi, inicialmente, considerado do gênero *Leishmania*, no entanto, diferenças morfológicas foram observadas, o que levou a entender que se tratava de um novo parasito, sendo então classificado como uma nova espécie: *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1908).

Jankü, um oftalmologista, descreveu a primeira infecção de toxoplasmose humana em 1923 na cidade Praga, Itália, em uma criança que foi a óbito com quadro de hidrocefalia e cegueira. Na necropsia pôde ser observado parasitos semelhantes a *T. gondii* após realização de cortes histológicos do globo ocular direito (Jankü, 1923). O primeiro caso de infecção congênita foi relatado nos Estados Unidos, onde foram descritos sinais de encefalite, meningite e mielite (Wolf e Cowen, 1937).

Em 1940, *T. gondii* foi identificado como causa de doença adquirida sendo descrito como responsável por um caso clínico fatal em um jovem (Pinkerton e Weinman, 1940). Sabin & Feldman (1948) desenvolveram um teste sorológico, *dye test*, que possibilitou constatar a alta prevalência da toxoplasmose no mundo, permitindo a realização de estudos e, conseqüentemente, de inquéritos epidemiológicos.

Hutchison (1965) reconheceu o papel dos felinos no ciclo evolutivo do parasito, mostrando que esses poderiam eliminá-lo pelas fezes. No entanto, somente em 1969, *T. gondii* foi reconhecido como um coccídio e teve seu ciclo biológico completamente descrito, evidenciando os felinos como hospedeiros

definitivos e os demais mamíferos, aves, roedores e répteis como hospedeiros intermediários (Frenkel *et al.*, 1970).

O aumento do número de casos de pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) despertou a atenção para a toxoplasmose. Pessoas cronicamente infectadas por *T. gondii* ao contrair o vírus da imunodeficiência adquirida podem apresentar reativação do protozoário e, assim, apresentar quadros clínicos graves desta infecção (Dannemann *et al.*, 1991, Remington *et al.*, 2001).

1.2 Agente etiológico

1.2.1 Sistemática

O protozoário *Toxoplasma gondii* do filo Apicomplexa, Classe Sporozoazida, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Sarcocystidae, Gênero: *Toxoplasma*; Espécie: *Toxoplasma gondii* (Current *et al.* 1990). Utilizando parâmetros filogenéticos e ultraestruturais, a Sociedade de Protozoologia propôs uma reclassificação dos protozoários. Baseado nessa classificação taxonômica o parasito foi inserido no Super-grupo: Sar (abrange todos dos grupos Stramenopiles, Alveolata, e Rhizaria - SAR), Primeiro grupo Alveolata, Segundo grupo Apicomplexa (complexo apical), Terceiro grupo Conoidasida (complexo apical), Quarto grupo Coccidia (gametas maduros intracelular) e Quinto grupo Eimeriorina (esporocisto no interior do oocisto imóvel) (Adl *et al.*, 2012).

1.2.2 Morfologia

O parasito apresenta três formas evolutivas definidas durante o seu ciclo biológico: oocisto, taquizoíto e bradizoíto (Amendoeira *et al.*, 1999). Essas três formas apresentam organelas citoplasmáticas características do Filo Apicomplexa, visíveis apenas em nível de microscopia eletrônica de transmissão que constituem o complexo apical: conóide, anel polar, microtúbulos subpeliculares, roptrias, micronemas e grânulos densos (Dubey, *et al.*, 1998a).

1.2.2.1 Taquizoíto

Os taquizoítos apresentam forma alongada, com uma extremidade afilada e outra arredondada, medindo aproximadamente, 4 a 8 µm de comprimento e 2 a 4 µm de largura (Dubey *et al.*, 1998a). O taquizoíto possui complexo apical e citoesqueleto, além de organelas comuns, incluindo ribossomas, retículo endoplasmático, aparelho de Golgi e mitocôndrias. O apicoplasto é uma organela que é essencial para a sobrevivência deste parasito, pois possui um genoma que é um importante alvo para fármacos utilizados nos tratamentos da toxoplasmose humana (Dubey *et al.*, 1998a) (Figura 1 A). O taquizoíto é envolvido por uma membrana que, é associada com os elementos do citoesqueleto, possibilita que o parasito preserve a integridade locomotora e, assim, se mova infectando as células ativamente, mesmo sem apresentar apêndices locomotores (Sheffield & Melton, 1968).

O taquizoíto é a forma menos resistente do parasito, não sobrevivendo ao congelamento, descongelamento, dessecação e ao suco gástrico (Remington *et al.*, 2001). Eles são encontrados na fase aguda da infecção, sendo considerados como forma de multiplicação rápida por endodiogenia em hospedeiros intermediários (Frenkel, 1974).

1.2.2.2 Bradizoíto e Cisto tecidual

Os bradizoítos são morfologicamente semelhantes aos taquizoítos, diferindo por reproduzir-se lentamente no interior do cisto, também por endodiogenia (Sheffield & Melton, 1968). A forma de resistência de *T. gondii* nos tecidos é o cisto contendo bradizoítos, que podem estar presentes em todos os tecidos, sendo, os principais sítios de infecção o miocárdio, o cérebro e o tecido músculo-esquelético (Hill *et al.*, 2005). Os cistos têm membrana dupla, possuem aproximadamente, de 10 a 100 µm de diâmetro, podendo chegar até 200 µm com centenas de bradizoítos no seu interior (Sheffield & Melton, 1968). Esta forma do parasito é a principal responsável pela transmissão da zoonose por meio da ingestão de carne crua ou mal cozida, sendo resistente às enzimas proteolíticas (Hill *et al.*, 2005). A parede do cisto pode ser degradada por ação da pepsina ou da tripsina, liberando bradizoítos que permanecem viáveis por duas até seis horas. Tal fato mostra que essa forma

evolutiva pode sobreviver ao período de digestão normal do estômago e duodeno por um certo tempo (Dubey et al., 1998a) (Figura 1 B).

1.2.2.3 Oocisto e esporozoito

O oocisto é a forma infectante proveniente da reprodução sexuada do parasito por gametogonia no interior das células intestinais dos felídeos não imunes. Essas formas evolutivas são eliminadas, ainda não esporuladas, juntos com as fezes para o ambiente (Frenkel *et al.*, 1970, Dubey & Beattie, 1988). Possuem formato esférico, medindo aproximadamente 12,5 x 11,0 µm quando não esporulado, uma parede espessa que confere resistência no ambiente. Quando esporulado, contém no seu interior dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (Frenkel *et al.*, 1970; Dubey *et al.*, 1998b; Hill, *et al.*, 2005). Os oocistos são resistentes aos desinfetantes, ao congelamento e ambientes secos, porém são mortos por meio do aquecimento a 70° C por 10 minutos (Dubey, 1994; Cademartori, 2007) (Figura 1 C e D).

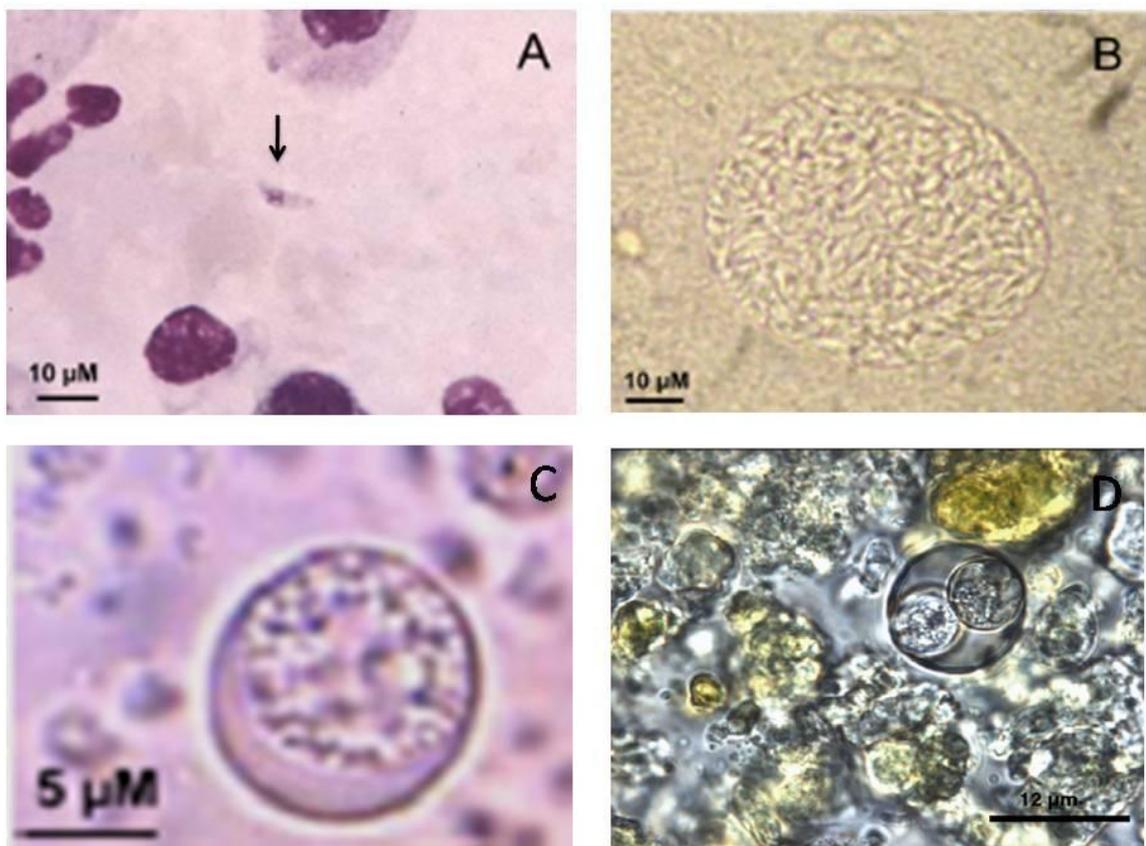


Figura 1 Formas ontogênica do *Toxoplasma gondii*. **A.** Taquizoíto em um lavado broncoalveolar corado com Giemsa. **B.** Cisto no cérebro de camundongo infectado 500 X. (Fonte: Robert-Gangneux & Dardé, 2012). **C.** Oocisto não esporulado. **D.** Oocisto esporulado de fezes de gato em técnica de flutuação de sacarose (Fonte: Lucio-Forster apud Elmore, 2010).

1.3 Ciclo Biológico

O ciclo de vida de *T. gondii* é do tipo heteroxeno facultativo, pois apresenta dois tipos de reprodução: uma assexuada em diversas células do hospedeiro intermediário, e outra sexuada ou coccidiana, no epitélio intestinal de felídeos não imunes (Frenkel *et al.*, 1970; Dubey, 1998) (Figura 2).

1.3.1 Reprodução Sexuada

O ciclo de vida de *T. gondii* foi completamente elucidado apenas na década de 1960, com a descoberta do papel central do gato como o hospedeiro definitivo, pois este animal abriga exclusivamente a forma reprodutiva sexuada e, conseqüentemente, elimina os oocistos nas fezes. De forma geral, esse ciclo

sexuado se divide em duas fases: fase assexuada ou merogonia e fase sexuada ou gametogonia (Frenkel *et al.*, 1970).

Os felídeos podem se infectar pelas três formas evolutivas, os esporozoítos, que estão contidos dentro dos oocistos, taquizoítos em células ou livres e bradizoítos, que residem em cistos teciduais. Quando um felídeo ingere cistos presentes nos tecidos de um hospedeiro intermediário, as paredes desses cistos são destruídas por enzimas gástricas e liberam bradizoítos do seu interior (Renold *et al.*, 1992). Essas formas evolutivas infectam enterócitos, onde passam por uma auto-limitação no número de multiplicações assexuadas por merogonia, caracterizadas pelo desenvolvimento de merozoítos dentro de esquizontes. O conjunto destes merozoítos, formados dentro do vacúolo parasitóforo da célula, é denominado meronte ou esquizonte maduro. Este primeiro passo é seguido pelo desenvolvimento sexual por gametogonia, com a formação de gametas masculinos conhecidos como microgametas e os gametas femininos que são os macrogametas (Renold *et al.*, 1992; Hill *et al.*, 2005).

O macrogameta é imóvel permanece dentro de uma célula epitelial, enquanto os microgametas que são móveis, com dois flagelos, saíram da célula hospedeira e irão fecundar o macrogameta, formando o ovo ou zigoto dentro do enterócito. Este evolui dentro do epitélio formando uma parede externa dupla, dando origem ao oocisto imaturo, que rompe a célula epitelial, sendo eliminado junto com as fezes dos felídeos. No ambiente, o oocisto esporulado contém dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos haplóides com 2 µm x 6 µm de tamanho (Hill *et al.*, 2005). Em condições de umidade, temperatura e oxigenação, o oocisto é capaz de se manter infectante por cerca de 12 a 18 meses (Frenkel *et al.* 1975; Dubey, 1995). O tempo decorrido entre a infecção e o aparecimento de novos oocistos nas fezes dos felídeos depende da forma evolutiva do parasito ingerido. Este período será de três dias, quando a infecção ocorrer por cistos, 19 dias ou mais, por taquizoítos e 20 ou mais dias, por oocistos (Frenkel, 1974; Dubey, 1998) (Figura 2).

1.3.2 Reprodução Assexuada

O ciclo assexuado é iniciado quando um hospedeiro intermediário ingere oocistos contendo esporozoítos, taquizoítos ou cistos teciduais (Hill *et al.*, 2005;

Cademartori, 2007). Os cistos e os oocistos passam pelo estômago e liberam, respectivamente, os bradizoítos e os esporozoítos no intestino, onde esses serão capazes de aderir e penetrar nas células da mucosa local (Dubey, 1998).

Aproximadamente oito horas após a ingestão das formas infectantes, elas passam por intensa multiplicação, penetrando em vários tipos de células do organismo. Dentro dessas células o parasito se multiplica no interior de um vacúolo parasitóforo, onde realiza sucessivas divisões por endodiogenia, formando novos taquizoítos. Estes rompem a célula parasitada, liberando os novos taquizoítos, que poderão penetrar em outras células (Black & Boothroyd, 2000).

No tecido do hospedeiro intermediário, após um período de replicação ativa, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos, no interior de cistos. A conversão de bradizoíto para taquizoíto pode ocorrer posteriormente, em qualquer momento de reagudização da infecção (Black & Boothroyd, 2000) (Figura 2).

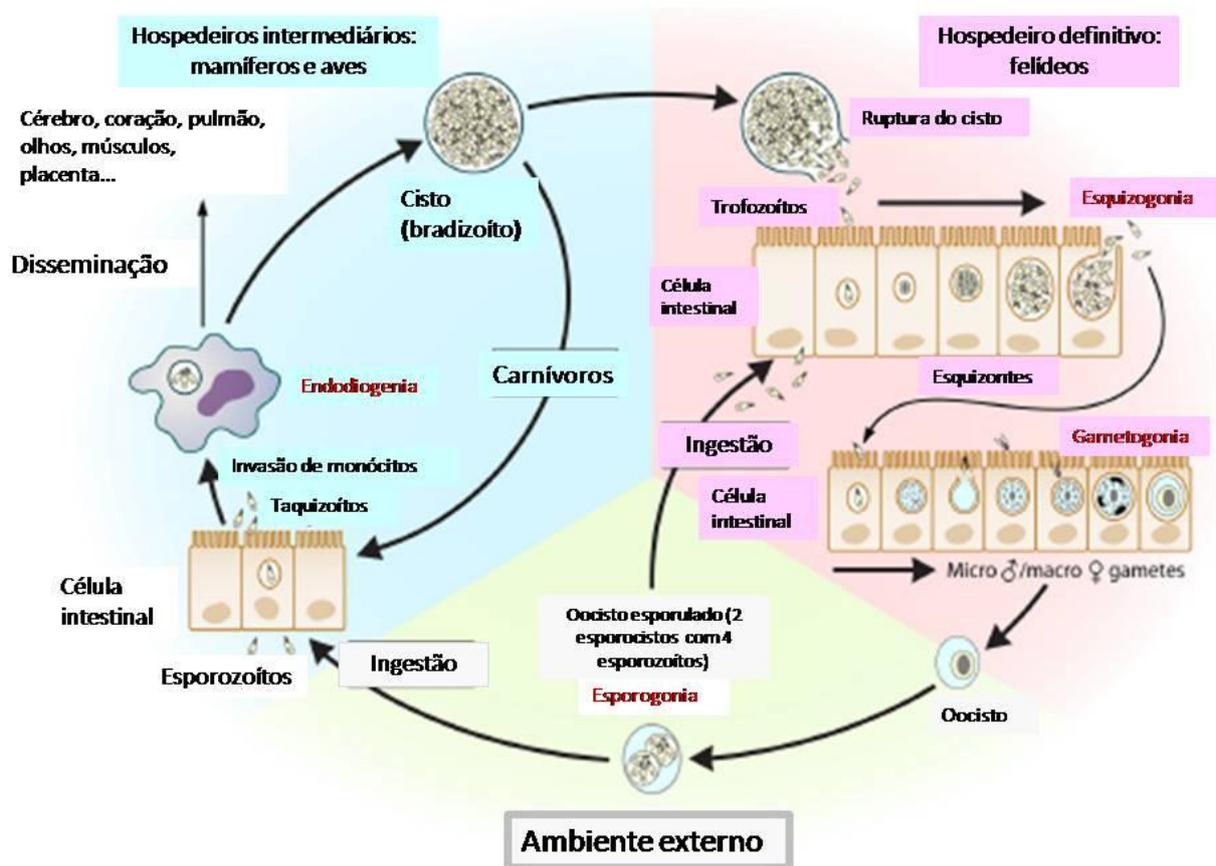


Figura 2 Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*: infecção e replicação do parasito (reprodução sexual e assexual) em seus respectivos hospedeiros. (Fonte: Robert-Gangneux & Dardé, 2012).

1.4 Toxoplasmose

1.4.1 *Toxoplasmose humana*

Estima-se que um terço da população mundial já teve contato com o *T. gondii*. A baixa imunidade está intimamente relacionada com a agudização da infecção (Tenter *et al.* 2000).

Na maioria das regiões brasileiras é realizado teste sorológico de rotina na primeira visita pré-natal, mas em alguns casos, esses exames não são solicitados. Em alguns casos, as gestantes não recebem nenhum cuidado pré-natal ou são assistidas já em período avançado da gravidez, ao fim do terceiro trimestre (Amendoeira & Camillo-Coura, 2010).

No momento em que *T. gondii* entra em contato com o organismo de um hospedeiro em potencial, um conjunto de barreiras naturais, formadas por elementos celulares e moleculares é ativado, onde se destacam as barreiras anatômicas e fisiológicas do trato gastrintestinal. Essas, se caracterizam pelo baixo pH do estômago, do muco que aprisiona microrganismos estranhos, dos cílios do epitélio intestinal que expõem microrganismos para fora do corpo e da secreção de substâncias tóxicas para os patógenos pela mucosa do trato gastrintestinal que ocorre durante as infecções orais (Dubey, 1998; Dommert *et al.*, 2005). Durante as infecções naturais, o protozoário ultrapassa o epitélio intestinal, dissemina-se para os tecidos mais profundos, avançando pelas barreiras hematoencefálica, placentária (em gestantes) e retiniana (Cademartori, 2007).

A infecção por *T. gondii* provoca intensa resposta de imunidade inata e posteriormente adaptativa, com um perfil de citocinas do tipo TH1. A imunidade inata tem importância na resistência do hospedeiro ao protozoário, pois é nesta fase que ocorre a ativação de algumas células como macrófagos, células *natural killer* (NK), células dendríticas e neutrófilos. Estas promovem o controle da multiplicação dos taquizoítos e estimulam os linfócitos TH1 a liberarem citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-12 (IL-12), interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Robert-Gangneux & Dardé, 2012).

A toxoplasmose humana geralmente é benigna e muitas vezes passa despercebida em indivíduos imunocompetentes, podendo nesses, apresentar-se de

forma subclínica ou com sintomas variados. As principais manifestações clínicas caracterizam-se por linfadenopatia, febre, visão ligeiramente diminuída e ainda algumas raras complicações, que podem estar associadas com a infecção primária (Hill & Dubey, 2002; Rorman *et al.*, 2006). Nos casos mais graves pode ocorrer acometimento neurológico que, geralmente, se expressa por encefalite ou meningoencefalite (Tenter *et al.*, 2000). Em casos sintomáticos, as primeiras manifestações clínicas que ocorrem são cefaléia, sonolência e mudança de comportamento, que podem apresentar um tempo de duração variável entre dias a semanas. A infecção, com o tempo, pode evoluir para casos de coma, convulsões, síndromes piramidal ou cerebelar, paralisias oculares e transtornos psíquicos. (Rorman *et al.*, 2006; Saadatnia & Golkar, 2012).

A retinocoroidite é a lesão mais frequente de toxoplasmose ocular, se manifestando em mais de 80% dos casos, sendo também observado estrabismo, nistagmo e micro-oftalmia. A transmissão congênita é responsável pela maioria dos casos de retinocoroidite e os recém-nascidos, geralmente apresentam a lesão ocular bilateral. Por outro lado, estudos, realizados em diversos países, identificaram toxoplasmose ocular como a forma mais comum de uveíte posterior (Benchimol e Moreira, 1995; Furtado *et al.*, 2013).

A toxoplasmose quando adquirida pela primeira vez durante a gestação, ainda é de grande importância, pelo fato de, normalmente, resultar em infecção fetal com graves sequelas. Durante o primeiro trimestre da gestação, a infecção pode determinar a morte fetal. No segundo trimestre, pode ocasionar a chamada Tétrade de Sabin, em que o feto apresenta retinocoroidite, calcificações cerebrais, retardo mental ou perturbações neurológicas e hidrocefalia, com macro ou microcefalia (Amendoeira e Camillo-Coura, 2010). A probabilidade de transmissão congênita vai aumentando do segundo para o terceiro trimestre de gestação. Entretanto, o tratamento da gestante com espiramicina pode reduzir em até 60% a possibilidade de transmissão fetal. Gestantes soronegativas para *T. gondii* estão sob risco de adquirir a primoinfecção, devendo ter cuidados especiais para evitá-las (Remington *et al.*, 2001; Cademartori, 2007).

1.4.2 Toxoplasmose felina

Os gatos são susceptíveis a infecção, independente da raça, idade e sexo. Quando infectados, liberam oocistos de *T. gondii* nas fezes. Na maioria das vezes, estes animais não apresentam manifestações clínicas da infecção, porém, quando ocorre, geralmente é polissistêmica. Os achados mais comuns da toxoplasmose felina são uveíte e a febre, embora tenham sido registrados quadros de enterite, hiperplasia reativa de nódulos linfáticos mesentéricos, pneumonia, alterações degenerativas no sistema nervoso central e encefalite (Dubey & Lappin, 2006; Galvão *et al.*, 2014). A toxoplasmose ocular pode ocorrer em gatos sem comprometimento sistêmico, podendo ser observado iridociclite, irite, coriorretinite, flare aquoso, precipitados ceráticos, luxação de cristalino, glaucoma e descolamento de retina, e estas alterações podem ocorrer isoladamente ou concomitantemente (Dubey & Lappin, 2006).

O desenvolvimento da toxoplasmose nos felinos depende da localização e do grau de lesão tecidual. Após a ingestão de cistos teciduais ou oocistos, os taquizoítos invadem as células iniciando um crescimento acelerado que provoca necrose no intestino e nos órgãos linfóides associados. Nos gatos o quadro clínico é determinado pela extensão da lesão em órgãos como cérebro, fígado, pulmões, músculos esqueléticos, glândulas supra-renais e olhos (Dubey & Lappin, 2006).

Gatas infectadas durante a gestação podem desenvolver placentite e os filhotes infectados de forma congênita podem apresentar toxoplasmose grave, incluindo retinocoroidite. Os anticorpos adquiridos de forma passiva não parecem ter efeito contra *T. gondii*. A infecção transplacentária pode causar abortamento ou nascimento de filhotes com sinais clínicos graves, podendo ocasionar a morte (Dubey, 2010). Filhotes que foram infectados por via transplacentária ou durante a lactação, podem apresentar processos inflamatórios que acometem o fígado, pulmões e o sistema nervoso central, o que reflete clinicamente como uveíte, letargia, depressão, ascite, encefalite, hipotermia e morte súbita (Dubey & Lappin, 2006; Galvão, *et al.*, 2014).

Gatos coinfectados com *T. gondii* e Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) ou o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) eliminam oocistos na quantidade e período similar aos gatos infectados apenas com *T. gondii* (Galvão *et al.*, 2014). Ainda é

indefinida a associação de *T. gondii* com doenças imunossupressoras felinas, como FIV e FeLV. Apesar de Akhtardanesh *et al.* (2010) considerarem essa coinfeção como um fator de risco, pesquisadores como Barros *et al.*, (2015) não verificaram nenhuma associação. Embora a maioria dos gatos só elimine oocistos uma única vez em sua vida, já foi observado que animais imunossuprimidos por corticóides e que são submetidos a infecção experimental podem voltar a eliminar oocistos em suas fezes (Elmore *et al.*, 2010).

1.5 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da infecção por *T. gondii* pode ser estabelecido por evidências diretas, detectando o parasito ou o seu DNA em tecidos ou em fluidos corporais. E ainda pode ser detectado por evidência indireta principalmente por anticorpos anti-*T. gondii* (Dubey & Beattie, 1988; Saadatnia & Golkar, 2012).

1.5.1 Detecção do parasito

1.5.1.1 Bioensaio

Em laboratórios especializados, a realização de bioensaio de material biológico em camundongo (*Mus musculus*) é uma das técnicas mais utilizadas para detecção de *T. gondii* em tecidos, fluidos ou fezes com suspeita da presença de oocistos. As principais vias de inoculação são a via intraperitoneal e a via oral, respectivamente. O animal é acompanhado diariamente para verificar a possível infecção. A presença do parasito no inóculo é confirmada pela realização de necropsia, lavado peritoneal, histopatologia de tecidos do camundongo e PCR (Dubey, 2010; Temoche, 2012).

1.5.1.2 Detecção de oocistos nas fezes

A pesquisa de oocistos é realizada nas fezes de felídeos, principalmente pelos métodos de centrifugo-flutuação com solução de Sheather (1923) ou de Faust e colaboradores (1938), no período de eliminação ativa do ciclo enteroepiteial. A probabilidade de se encontrar oocistos nas fezes de um gato é baixa. Uma das

implicações no diagnóstico fecal é o fato dos oocistos de *T. gondii* serem morfologicamente indistinguíveis de outros coccídios, como *Hammondia hammondi* e de só poderem ser diferenciados por técnicas moleculares e bioensaios, sendo este, o único método de confirmação definitiva (Hill & Dubey, 2002; Elmore *et.al.*,2010).

1.5.1.3 Detecção de DNA

Métodos de PCR monoplex e multiplex são úteis para identificar especificamente *T. gondii* em amostras biológicas (Saadatnia & Golkar, 2012). Abdul-Ghani *et al.* (2011) revisaram o desempenho de diferentes genes-alvo e PCR desenvolvidos para a detecção de toxoplasmose congênita. Esse estudo incluiu gene B1 (Burg *et al.*, 1989), fragmento 529 pb (AF146527) (Homan *et al.* 2000), 18S DNA ribossomal e P30 (Jones *et al.* 2000). Várias outras sequências de cópia única, incluindo o SAG2, SAG3, SAG4 e GRA4, também têm sido utilizados como alvos de PCR em laboratórios de investigação, no entanto, a sensibilidade da PCR é aumentada se a sequência alvo existe em múltiplas cópias que são espécies-específicas (Burg *et al.*, 1989; Kompalic-Cristo *et al.*,2005).

O gene alvo de PCR mais amplamente utilizado é o gene B1, que se encontra repetido em 35 cópias no genoma do *T. gondii* (Burg *et al.* 1989). Estudos compararam utilidade de B1 e o fragmento de 529 pb, um gene alvo presente em 200 a 300 cópias por célula, para o desenvolvimento de testes de PCR sensíveis e específicos para *Toxoplasma gondii* (Homan *et al.* 2000). A maioria dos estudos relataram um melhor desempenho de PCR utilizando o 529 bp fragmento, enquanto outros ressaltam que o B1 produz uma maior sensibilidade e especificidade (Homan *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2000, Saadatnia & Golkar, 2012).

Outro alvo molecular também amplamente utilizado é o gene P30, que se encontra representado em cópia única, codificando o principal antígeno de superfície do protozoário. Diferentes pares de iniciadores foram igualmente propostos para esse gene. Na literatura, protocolos que empregam a PCR convencional (qualitativa) para a detecção de genes em cópia única, como o gene P30, parecem menos sensíveis no diagnóstico do protozoário (Jones *et al.*, 2000; Kompalic-Cristo *et al.*,2005).

PCR em tempo real que combina os passos de amplificação e detecção do produto de PCR em uma única fase parece aumentar a sensibilidade e especificidade no diagnóstico. Essa técnica facilita a medição quantitativa de parasitos em fluido amniótico, o que pode ser útil na correlação com os sintomas clínicos e o impacto do tratamento (Homan *et al.*, 2000).

1.5.2 Detecção de anticorpos (Ac) anti-*T. gondii*

O exame sorológico tem sido muito utilizado como ferramenta de diagnóstico, no entanto, os resultados devem ser cuidadosamente interpretados. A maioria dos gatos infectados soroconvertem três semanas após o início da infecção e possivelmente já tenha terminado o período de eliminação de oocistos. Por conta desse aspecto, o uso de sorologia em gatos domésticos como um indicador de risco de exposição para os seres humanos é limitada (Vollaire *et al.*, 2005; Dubey & Jones, 2008).

1.5.2.1 Ensaio imunoenzimático

A técnica laboratorial mais comumente utilizada para diagnóstico de *T. gondii* é o ensaio imunoenzimático (EIA), dentre eles tem o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) que utiliza uma enzima conjugada a um anticorpo secundário e o ELFA (*Enzyme linked fluorescent assay*) que combina um imunensaio enzimático com uma reação que resulta em fluorescência. Ambos detectam a presença de anticorpos, principalmente IgG e IgM específicos para o parasito *T. gondii* em amostras séricas. Ensaio imunoenzimáticos são úteis como testes de triagem rápido e de baixo custo. Esses foram melhorados ao longo dos anos, para evitar resultados falsos positivos e falsos negativos. Não há padronização dessas técnicas quanto à qualidade do antígeno utilizado, determinando elevada variabilidade nos resultados obtidos com os diferentes kits e/ou em diferentes laboratórios (Pfrepper *et al.*, 2005; Saadatnia & Golkar, 2012).

1.5.2.2 Hemaglutinação indireta (HAI)

Baseia-se na capacidade dos anticorpos em reconhecer antígenos de *T. gondii* acoplados a eritrócitos. Os eritrócitos acoplados ao complexo antígeno-anticorpo se depositam sob a forma de véu no fundo do poço da microplaca. A presença de anticorpos IgM, característicos do período agudo da parasitose são investigados, empregando-se tratamento com 2-mercaptoetanol (2-ME). Nos soros com IgM tratados com 2-ME, se observa queda do título em pelo menos duas diluições quando comparados com os mesmos soros sem tratamento prévio (Wiener, 2000).

1.5.2.3 Técnica de aglutinação modificada (MAT)

Atualmente tem sido realizado, com grande frequência, o teste de aglutinação modificada ou microaglutinação (MAT), que surgiu de uma modificação na técnica de aglutinação realizada por Desmonts e Remington (1980). Seu fundamento é o uso de antígenos fixados em formalina produzido pela inoculação da cepa RH (genótipo I) e TG180 células sarcomatosas murino (ATCC CCRFS-180 II) em camundongos Swiss fêmeas. Os soros a serem testados são diluídos em uma placa de microtitulação e posteriormente coberta com fita adesiva transparente e incubadas a 37 °C durante 12 horas. Os resultados são definidos de acordo com as características apresentadas, no qual um depósito em forma de botão da suspensão do parasito na parte inferior do poço é interpretado como uma reação negativa, e tapete completo de organismos aglutinados é considerado positivo (Canon-Franco *et al.*, 2003).

1.5.2.4 Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI)

A técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) tem como objetivo determinar a presença de anticorpos específicos para *T. gondii*, por meio de fluorescência. As amostras de soro são diluídas em série e incubadas com o taquizoíto inativado fixado a uma lâmina de vidro. Os anticorpos presentes no soro se ligam ao parasito sendo, em seguida, o complexo antígeno-anticorpo detectado com imunoglobulinas secundárias marcadas com isotiocianato de fluoresceína. A leitura das amostras é considerada subjetiva, dependente da interpretação do

observador, realizada em microscópio de imunofluorescência. Resultados falsos positivos podem ocorrer com soros que contêm anticorpos antinucleares e fator reumatóide no caso de humanos, e ainda, resultados falsos negativos para IgM podem ocorrer devido ao bloqueio por excesso IgG específico (Uchôa *et al.*, 1999; Saadatnia & Golkar, 2012).

1.6 Epidemiologia

1.6.1 Transmissão

Todas as formas evolutivas de *T. gondii* são infectantes para ambos os tipos de hospedeiros, definitivos e intermediários. Os oocistos e cistos estão associados à transmissão da toxoplasmose adquirida e os taquizoítos são os responsáveis pelos casos de transmissão congênita (Amendoeira *et al.*, 1995).

Os felídeos que são os hospedeiros definitivos se infectam principalmente quando ingerem o cisto com bradizoíto de *T. gondii* no tecido dos hospedeiros intermediários, como roedores e aves ou por ingestão de oocistos (Elmore *et al.*, 2010). No entanto, os hospedeiros intermediários que são as aves e os mamíferos, incluindo os felídeos, se infectam por via oral, transfusão sanguínea, transplante de órgãos, transmissão acidental por auto-inoculação em laboratório e por transmissão transplacentária (Amendoeira, 1995; Robert-Gangneux & Dardé, 2012).

A infecção por via oral pode ocorrer pela ingestão de: oocistos contidos no solo de jardins, caixas de areia, latas de lixo ou alimentos contaminados; cistos com bradizoítos em carne crua ou mal cozida ou taquizoítos em leite contaminado. A presença de taquizoítos de *T. gondii* no sêmem e no leite não pasteurizado demonstra mais uma via de transmissão, porém são consideradas fontes raras de infecção (Dubey, 1994; Spalding *et al.*, 2005; VanWormer, *et al.*, 2013).

A transmissão transplacentária pode ocorrer quando a gestante, em qualquer fase da gravidez adquire a parasitose pela primeira vez, apresentando infecção aguda (Hill *et al.*, 2005). As condições de infecção para o feto são a transplacentária, quando a gestante tem a toxoplasmose na fase aguda e transmite o parasito ao feto pela placenta e o rompimento de cistos no endométrio, devido à distensão mecânica ou ação lítica das vilosidades coriônicas da placenta, assim os bradizoítos são

liberados, transformam-se em taquizoítos e penetram no feto (Costa, 2007) (Figura 3). O transplante de órgãos sólidos também pode ser uma fonte de infecção importante, pois órgãos de doadores com cistos de *T. gondii*, podem ser transmitidos para um destinatário imunossuprimido que possivelmente desenvolverá a doença (Fernandez-Sabe & Cervera, 2012).

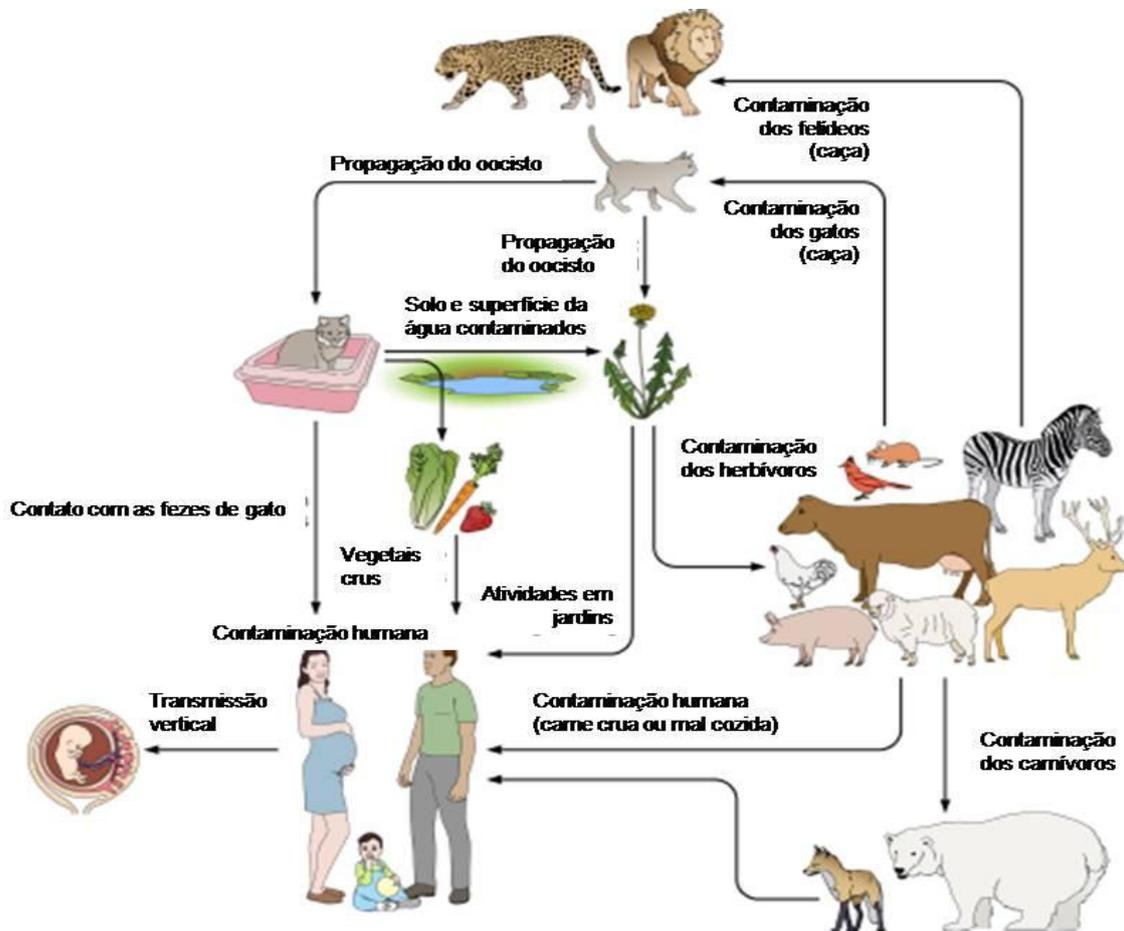


Figura 3 Fontes de infecção por *T. gondii* de origem alimentar e ambiental. (Fonte: Robert-Gangneux & Dardé, 2012).

1.6.2 Fatores de riscos

Segundo a definição do Ministério da Saúde, fatores de riscos são condições que predispõem um indivíduo a desenvolver uma determinada doença. Podem ser genéticas, comportamentais, sociais, culturais ou ambientais. Os fatores de riscos podem ser classificados em não modificáveis nos quais se destacam sexo, idade e herança genética e comportamentais tais como tabagismo, alimentação, atividade

física, consumo de álcool e outras drogas. Um determinado fator pode ser classificado como potencialmente de risco em uma situação e protetor em outra, dependendo da relação estabelecida entre as variáveis individuais e o contexto socioambiental (Brasil, 2012).

1.6.2.1 Fatores de risco associado ao agente

Bradizoítos resultam da conversão de taquizoítos numa fase em divisão lenta, devido seu metabolismo latente e bem adaptados para a sobrevivência em longo prazo. Cistos contendo bradizoítos são resistentes à quimioterapia, permanecem viáveis a 60°C durante cerca de 4 minutos e a 50° C durante cerca de 10 minutos e ainda resistem à pepsina do ácido gástrico, o que permite a sua transmissão através da ingestão (Robert-Gangneux & Dardé, 2012).

A parede do oocisto é uma estrutura de múltiplas camadas extremamente robusta para proteger o parasito de danos mecânicos e químicos. Ela permite que o parasito sobreviva por longos períodos, até mais de um ano, em um ambiente úmido. Oocistos exibem uma notável resistência a vários procedimentos de inativação e especialmente para reagentes químicos incluindo detergentes ou soluções desinfetantes tais como soluções de hipoclorito de sódio. Devido a isso, os oocistos de *T. gondii* podem contaminar a água ou alimentos (Dubey *et al.*, 1998b, VanWormer, *et al.*, 2013).

A variabilidade genética, também tem sido vista como um fator de risco do agente. Ela foi classificada a partir do polimorfismo de fragmentos do DNA gerados com enzimas de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism* ou RFLP) que distingue três principais genótipos, ou linhagens clonais, conhecidas como cepas dos tipos I, II e III, que podem infectar tanto os animais como o ser humano (Howe *et al.*, 1995). As infecções de maior gravidade são ocasionadas normalmente pela cepa I devido à capacidade de interferir na resposta imune do hospedeiro. Já as cepas do tipo II não exercem a capacidade de reprimir a resposta do hospedeiro, e sim induzir a uma resposta imune rápida, garantindo assim a sobrevivência tanto do hospedeiro como do parasito, resultando na conversão bradizoíto e no encistamento (Howe *et al.*, 1995; Pena, 2004).

1.6.2.2 Fatores de risco associado ao hospedeiro

1.6.2.2.1 Hospedeiro definitivo

O gato doméstico é da família Felidae e possui o nome científico *Felis silvestris catus* ou somente *Felis catus*. O *Felis silvestris*, de onde o gato doméstico é descendente, é classificado como uma espécie politípica, ou seja, originada de algumas outras espécies que cruzaram entre si (Driscoll *et al.*, 2007).

A domesticação des *Felis catus* se deu após os humanos mudaram de vida nômade para assentamentos permanentes. Por necessidade, teve um aumento na agricultura e conseqüentemente o acúmulo de grãos, atraindo ratos e outros roedores. Perante a isso, os gatos foram vistos como os animais "domesticados" mais prováveis de caçar e controlar a população de roedores (Driscoll *et al.*, 2007). O termo gato feral refere-se a animais domésticos que retornaram ao estado selvagem em ambientes com pouco contato humano. Geralmente surgem de duas situações: animais domésticos de rua adaptados para viver por conta própria ou animais de estimação (domiciliados) desabrigados, perdidos ou abandonados (Driscoll *et al.*, 2009).

Por serem carnívoros de médio porte, normalmente pesam entre 3,3 e 4,5 kg e medem entre 73 a 79 cm de comprimento. Um animal adulto pode comer 5 a 8% do seu peso corporal por dia. No entanto, uma fêmea amamentando pode consumir 20% do seu próprio peso e um gato jovem 9,5% do seu peso. A dieta desses animais inclui insetos, como abelhas e gafanhotos, roedores, anfíbios, répteis, e as aves que fazem seus ninhos no chão se tornando particularmente mais vulneráveis (Wills & Wolf, 2000).

A maturidade reprodutiva nas gatas é alcançada entre 4 a 12 meses de idade, mas alguns fatores podem interferir como: a raça (pelo curto entra no cio mais cedo do que pelo longo), a estação do ano (dias mais longos) e a condição corporal (pelo menos 2,3 kg). Seu sistema reprodutor é classificado como poliétrico sazonal de dias longos, contudo em regiões próximo a linha do Equador a sazonalidade não acontece, resultando em ciclo estral o ano todo. Ao todo essas fêmeas têm 2 a 3 estações reprodutivas por ano (Burke, 1975; Toniollo *et al.*, 1995).

Os gatos têm o hábito de defecar e enterrar suas fezes em terra fofa ou areia, que por serem consistentes podem permanecer meses no local. No caso de fezes

com oocisto de *T. gondii*, essas necessitam permanecer no ambiente, para esporular e se tornarem infectantes (Galvão *et al.*, 2014). Por causa de seus cuidadosos hábitos de limpeza, o material fecal geralmente não é encontrado na pelagem desses animais, com isso a possibilidade de transmissão para seres humanos pelo ato de tocar ou acariciar um gato é mínima ou inexistente (Bresciani *et al.*, 2013).

Um estudo realizado em gatos domésticos no México correlacionou características do animal e seus hábitos como possíveis fatores de risco a infecção (sexo, idade, dieta, de caça, de condição corporal, e número de gatos por família). Seus resultados mostraram associação de gatos positivos para toxoplasmose com a má condição corporal e a presença de mais de um gato em casa. Apesar de esperasse que os gatos que têm acesso às ruas sejam mais propensos a caçar e se tornem infectados com *T. gondii*, não foi encontrada associação entre os gatos que tinham acesso às ruas e a caça, do que aqueles mantidos dentro de casa. As demais variáveis como sexo e tipo de dieta não apresentaram associação com gatos infectados com *T. gondii* (Castillo-Morales, *et al.* 2012).

O estado corporal é utilizado como um indicador indireto de nutrição em pequenos animais e pode ser correlacionado ao estado imunológico do animal. Os gatos com doenças imunossupressoras e má condição corporal são aqueles que sofrem com reativação da infecção por *T. gondii*. Deste modo, o aumento da susceptibilidade a doenças e períodos mais longos de parasitemia, incluindo as causadas por protozoários leva a quadros importantes da doença (Lappin, *et al.*, 1992).

Outro fator importante são as regiões com alta densidade de aves ou roedores infectados, que representam risco de infecção para os gatos errantes ou com livre acesso à rua, que podem caçar esses animais como fonte de alimento (Tenter, *et al.*, 2000).

1.6.2.2.2 Hospedeiro intermediário

Diversos fatores podem estar envolvidos na infecção humana por *T. gondii*, como: consumo de carnes cruas ou mal cozidas, faixa etária, renda *per capita* e grau de escolaridade do paciente; presença de gatos peridomiciliados; hábito de ingerir verduras e legumes crus; água não tratada e hábito de lidar com terra ou areia (Spalding *et al.*, 2005; Schnell, 2011).

O risco de transmissão associado à ingestão de carne varia entre os diferentes países de acordo com os hábitos alimentares locais e com a prevalência da doença entre os animais criados para consumo (Millar *et al.*, 2008; Robert-Gangneux & Dardé, 2012). Em um estudo multicêntrico na Europa, verificou-se que os principais fatores de risco para a infecção em gestantes foram o consumo de carne crua ou mal cozida em 30 a 63% dos casos de infecção, enquanto o contato com o solo representou de 6 a 17% dos casos (Cook *et al.* 2000).

As condições sócio-econômicas e hábitos de higiene estão fortemente relacionados quando avaliados como fatores de risco para toxoplasmose. Visto que comunidades mais pobres apresentam reduzidos níveis de condições sanitárias, o que favorece a contaminação de água e alimentos com o parasito (Schnell, 2011). O risco de adquirir o oocisto através da remoção das fezes de caixa de areia é mínimo quando medidas de higiene são adotadas, tais como uso de luvas, pás e máscaras. A limpeza das caixas de areia deve ser feita diariamente para evitar que o oocisto de *T. gondii*, que eventualmente tenha sido liberado nas fezes, esporule e torne-se infectante (Dubey *et al.*, 1998a).

Profissionais que manipulam gatos não apresentam maiores riscos de infecção do que os demais. No entanto pessoas que trabalham com o solo, como jardinagem, tem maior risco de contato com oocisto e devem calçar luvas para se protegerem de patógenos presentes no solo e realizar a lavagem de mãos após o contato com o solo (Spalding *et al.*, 2005; Dabritz & Conrad, 2010).

1.6.2.3 Fatores de risco associado ao ambiente

A contaminação ambiental por oocistos vem ganhando destaque como importante forma de transmissão da toxoplasmose. Um único felídeo pode liberar mais de 100 milhões de oocistos não esporulados (Dubey, 2010). Condições de umidade podem aumentar o tempo de viabilidade dos oocistos, o que possivelmente explica a alta prevalência em países tropicais (Frenkel *et al.*, 1970; Gomez-Marin *et al.*, 2011). Os oocistos são resistentes a condições ambientais adversas. Eles permanecem viáveis em um ambiente úmido por mais de um ano e sob condições laboratoriais podem sobreviver a 4° C durante até 54 meses, a -10° C durante 106

dias e a 35 °C e 40°C durante 32 dias e 9 dias, respectivamente (Dubey, 1998a; Tenter *et al.*, 2000).

Na água, o oocisto permanece viável por longo tempo e pode resistir ao congelamento e moderadamente altas temperaturas. Eles não são mortos por tratamentos químicos e físicos que são atualmente aplicados em estações de tratamento de água, incluindo a cloração e tratamento com ozônio (Dumetre *et al.*; 2008). A contaminação de reservatórios municipais de água por fezes de felinos infectados e eliminando oocistos de *T. gondii* pode levar a surtos ou epidemias. (VanWormer, *et al.*, 2013). Surtos que envolveram grande número de pacientes foram associados com a contaminação de reservatórios de água de abastecimento, tais como os descritos em Victoria, British Columbia, Canadá por Aramini, *et al.* (1999); em Santa Isabel do Ivaí, Brasil por FUNASA (2002) e Dias & Freire, (2005). e em Coimbatore, Índia por Balasundaram *et al.* (2010). Água e solo contaminados de forma geral podem atuar como veículos transferindo oocistos para legumes e frutas (Robert-Gangneux e Dardé 2012). Em vários estudos de fatores de risco, o consumo alimentos crus contaminados como verduras ou frutas foram associados como forte fator de risco para infecção de *T. gondii* (Spalding *et al.*, 2005).

1.6.3 Soroprevalência de *T. gondii* em gatos domésticos

A literatura tem mostrado que a soroprevalência de *T. gondii* em gatos varia conforme a área geográfica estudada, hábitos populacionais, clima predominante na região, número de amostras analisadas e as técnicas sorológicas utilizadas para o diagnóstico da parasitose (Elmore, *et al.*, 2010). Características peculiares dos gatos também podem influenciar diretamente na prevalência de *T. gondii*. Gatos que tem acesso à rua se expõem mais a infecção, pois podem caçar os hospedeiros intermediários. A idade também é um fator de risco importante para os felinos, pois quanto mais senil o animal mais tempo foi a exposição desses animais as estruturas infectantes (Hiil & Dubey, 2005).

A soroprevalência da infecção por *T. gondii* nas populações de gatos do mundo possui variação de 4,5% (Gauss, *et al.*, 2005) a 91,8% (Castillo-Morales *et al.*, 2012) e no Brasil de 5,6% (Bastos, *et al.*, 2014) a 59,3% (Costa *et al.*, 2012).

1.6.3.1 Soroprevalência Mundial

Em um estudo realizado na China, 42 gatos de rua, aparentemente saudáveis de duas províncias distintas Henan e Zhejiang foram submetidos à eutanásia para obtenção de soro, fezes e tecidos. As amostras de soro foram testadas pela técnica de aglutinação modificada (MAT) com o ponto de corte 1:25, na qual 50% dos animais foram considerados positivos para anticorpos anti-*T. gondii* (Yang *et al.*, 2015). Também na China, Wang *et al.* (2012) pesquisaram a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em amostras de 145 animais de rua e abandonados de seis gatis públicos em Xangai. A pesquisa de anticorpos ocorreu por meio do ensaio imunoenzimático ELISA e captura de antígeno (ELISA-CA). Além dessas avaliações, 35 amostras foram escolhidas aleatoriamente para realização da PCR. As taxas positivas para anticorpos, antígenos circulantes e DNA de *T. gondii* foram 11,7%, 5,5% e 5,7%, respectivamente (Wang *et al.*, 2012).

No Japão foi realizado um inquérito no período de 1994 a 1999, com um total de 1.447 amostras de soro de gatos oriundos de 24 hospitais veterinários particulares distribuídos em 17 prefeituras de Hokkaido. Tais amostras foram analisadas para determinar a soroprevalência para *Bartonella henselae*, vírus da imunodeficiência felina (FIV), vírus da leucemia felina (FeLV) e *T. gondii*. A pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* foi feita pela técnica de aglutinação de látex (LAT) comercial (ponto de corte $\geq 1:64$), no qual a taxa de sororreagente foi de 5,4% dos gatos examinados (Maruyama *et al.*, 2003).

O sistema de vigilância de doenças zoonóticas do exército dos Estados Unidos e Controle de animal feral desenvolveu um trabalho em várias bases militares americanas em todo o Iraque. Foram obtidas 207 amostras de sangue dos gatos errantes, que foram testadas pela técnica de LAT (ponto de corte $\geq 1:32$), na qual verificou-se uma positividade de 30,4% dos animais (Switzer *et al.*, 2013).

No Irã, Akhtardanesh *et al.* (2010) realizaram uma pesquisa com 70 gatos errantes e 70 gatos domiciliados para determinar a soroprevalência do FeLV, FIV e *T. gondii*. Os soros foram testados para anticorpos anti-*T. gondii* específicos IgG pela técnica de MAT. Títulos $\geq 1:20$ foram considerados positivos, sendo evidenciada uma prevalência geral de 32,1%. Destes 34,2% para gatos domiciliados e 44,2% em vida livre, respectivamente. Outro estudo também realizado com

população de gatos errantes foi feito na área metropolitana de Bangucoque, na Tailândia, com 592 gatos. Foram detectados anticorpos anti-*T. gondii* em 11% pela técnica de LAT, que considerou positivas as amostras com títulos $\geq 1:64$ (Jittapalaponga *et al.*, 2007).

Em Barcelona, na Espanha, 220 gatos foram testados pela MAT, tendo resultado positivo ($\geq 1:25$) em 45% (Gauss *et al.*, 2003). Também utilizando a técnica MAT, foram testadas 215 amostras de gatos domésticos oriundos de Lisboa, Portugal. Dessas amostras, 20,5% tinham títulos iguais ou superior a 1:40 sendo considerado positivas (Esteves *et al.*, 2014).

Na Holanda, ao analisar 450 amostras de gatos atendidos em clínicas veterinárias, por meio de ELISA, pode-se observar uma soroprevalência de 18,2% (Opsteegh *et al.*, 2012). Já em Lyon, na França, Afonso *et al.* (2006) realizaram uma pesquisa longitudinal no período de 1993 a 2004 com objetivo de verificar a transmissão de *T. gondii* em uma população de gatos errantes distribuídos em todo o terreno de um hospital. Os animais foram capturados duas vezes por ano e suas amostras foram diagnosticadas pela MAT, na qual foram consideradas positivas titulações $\geq 1:40$. Durante o estudo, o tamanho da população variou entre 37 a 94 gatos, com variações estatisticamente significativas. A positividade foi observada em 56 dos 301 gatos testados, tendo uma prevalência geral de 18,6% e uma incidência de 0,169 infecções de gato por ano. Nesse estudo foi considerado como soroconversão os casos de animais com menos de seis meses de idade positivos na primeira amostra e aqueles animais que foram negativos na primeira amostra e positivos na segunda. Perante a isso, registrou-se soroconversão em 60 gatos errantes.

Cerro, *et al.* (2014), analisaram por meio da técnica HAI, 154 amostras de soro de gatos atendidos em clínicas veterinárias da região metropolitana de Lima, Peru, obtendo uma soroprevalência de 11%. Na Colômbia, foi observada uma prevalência de 45,2% em 170 amostras de gatos oriundos de gatis públicos (Dubey *et al.*, 2006). Neste estudo, as amostras foram diluídas a partir de 1:10 e todos os títulos obtidos na MAT foram registrados. Os autores optaram por considerar todas as diluições positivas devido à falta de determinação de um ponto de corte específico para diagnóstico em gatos. De forma geral, foi considerado o ponto de corte 1:20 na MAT o mais específico para infecção por *T. gondii*. Com isso ao

desconsiderarmos as amostras com títulos de 1:10 ou menos como não-específico, a soroprevalência foi de 32,3% (52 de 170 gatos).

Um estudo transversal realizado no México, na cidade de Mérida, foram examinadas 220 amostras de gatos domiciliados, por meio do teste de ELISA indireto e PCR. A prevalência sorológica de *T. gondii* foi de 91,8% e 75,5% para IgG e IgM, respectivamente e de 79% na PCR (Castillo-Morales *et al.*, 2012) Já nos Estados Unidos, 232 gatos atendidos no hospital de ensino do Colégio Regional Virginia-Maryland de Medicina Veterinária participaram da pesquisa de anticorpos para toxoplasmose por meio de reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Desses 232 gatos, 36 eram portadores de doença renal crônica (DRC). Os anticorpos para *T. gondii* foram encontrados em 63 amostras, que incluiu 10 dos 36 gatos com DRC. A prevalência de anticorpos em gatos com DRC não foi significativamente diferente da prevalência dos não portadores de DRC (Hsu *et al.*, 2011). Segue abaixo um quadro panorâmico da prevalência de *T. gondii* nesses países (Quadro 1).

Quadro 1 Soroprevalência da toxoplasmose em gatos domésticos no Mundo, segundo alguns artigos da literatura, de acordo com a região estudada, procedência do animal, número de amostras e técnica realizada.

LOCAL	PROCEDÊNCIA	PREVALÊNCIA GERAL	TÉCNICA	REFERÊNCIA
CHINA	Domiciliados	(21/42) 50%	MAT	Yang <i>et al.</i> , 2015
CHINA	Gatil público e errantes	(17/145) 11,7%	ELISA	Wang <i>et al.</i> 2012
JAPÃO	Domiciliados	(78/1447) 5,4%	LAT	Maruyama <i>et al.</i> , 2003
IRAQUE	Errantes	(63/207) 30,4%	LAT	Switzer <i>et al.</i> , 2013
IRÃ	Errantes e domiciliados	39,3%	MAT	Akhtardanesh <i>et al.</i> , 2010
TAILÂNDIA	Errantes	(65/592) 11%	LAT	Jittapalaponga <i>et al.</i> , 2007
ESPANHA	Domiciliados	(99/220) 45%	MAT	Gauss <i>et al.</i> , 2003
LISBOA	Domiciliados	(44/215) 20,5%	MAT	Esteves <i>et al.</i> , 2014
HOLANDA	Não informada	(91/450) 20,2%	ELISA	Opsteegh <i>et al.</i> , 2012
FRANÇA	Errantes	(56/301) 18,6%	MAT	Afonso <i>et al.</i> , 2006
PERU	Domiciliados	(17/154) 11%	HAI	Cerro <i>et al.</i> , 2014
COLÔMBIA	Gatil público	(77/170) 45,2%	MAT	Dubey <i>et al.</i> , 2006
MÉXICO	Domiciliados	(220) 75,5% (IgM) 91,8% (IgG)	ELISA	Castillo-Morales <i>et al.</i> , 2012
EUA	Domiciliados	(63/232) 27%	RIFI	Hsu <i>et al.</i> , 2011

1.6.3.2 Soroprevalência no Brasil

No arquipélago de Fernando de Noronha, no estado de Pernambuco uma pesquisa foi desenvolvida, na qual foram analisadas 764 amostras de sangue coletadas de 533 animais domésticos e 231 silvestres. Os soros foram testados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com ponto de corte 1:16 ou com o teste de aglutinação modificada (MAT) utilizando um ponto de corte 1:25, ou por ambas as técnicas. A soroprevalência geral foi de 49,5% nos animais domésticos e de 73,6% nos selvagens. Um total de 118 gatos domésticos foram submetidos à coleta de sangue, destes 48 estavam em vida livre e 70 eram domiciliados. Os anticorpos para *T. gondii* foram encontrados em 59,3% dos gatos, sendo 66,6% nos gatos em vida livre na técnica de MAT. Já nos gatos domiciliados, no qual amostras de soro de 25 animais foram examinadas somente na RIFI e 45 somente na MAT, observou-se 72% de positividade na RIFI e 44,4% na MAT (Costa, *et al.*, 2012).

Duzentos gatos domiciliados com acesso a rua, de São Luís (MA), foram testados sorologicamente pela técnica de RIFI para anticorpos de IgG anti-*T. gondii* e anti-*Neospora caninum*. Os títulos de anti-*T. gondii* variaram de 1:40 (ponto de corte) a 1:2560. Deste modo, verificou-se 73,3% de positividade somente para *T. gondii* e 26,7% reativos para ambos os parasitos (Braga, *et al.*, 2012).

Netto *et al.* (2003) estudaram um grupo de 41 gatos cativos oriundos do Centro de Controle de Zoonoses e Doenças Vetoriais da Cidade de Niterói-RJ, com um dos objetivos de verificar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* utilizando os métodos sorológicos de Hemaglutinação Indireta (HAI) e *Enzyme Linked Fluorescent Assay*, ELFA (Elfa- Toxo-Vidas). No método ELFA, apenas um animal foi positivo para IgM, já no HAI oito animais apresentaram resultado positivo e um fracamente positivo, tendo o resultado geral de 24,39%.

Durante o ano de 2003, 237 gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de 15 municípios do Estado de São Paulo, foram testados sorologicamente pela técnica MAT. Os gatos com titulação igual ou maior que 1:25 foram considerados positivos. Nesta condição foi encontrada a soroprevalência de 35,4%, na qual 83,3% dos gatos (70/84) tinham títulos entre 25 a 800, e 16,7% (14/84) apresentaram títulos entre 1600 a 12800. A técnica de bioensaio em

camundongos foi realizada com tecidos de 71 dos 84 gatos soropositivos, tendo como resultados 47 isolados (Pena, *et al.*, 2006).

No mesmo ano, outro estudo com gatos cativos de Centro de Controle de Zoonoses também foi realizado em São Paulo, no município de Araçatuba. O grupo experimental foi composto por 400 gatos de ambos os sexos, de diferentes raças e idades. As amostras desses animais foram analisadas pela técnica de RIFI para anticorpos anti-*T. gondii*, tendo como resultado reagente (RIFI ≥ 64) em 25% dos animais, com títulos variando de 64 a 4096 (Bresciani, *et al.*, 2007). Já no ano de 2011, 70 gatos domiciliados (48 de área rural e 22 de área urbana) do interior de São Paulo foram diagnosticados para *T. gondii* por meio da RIFI (ponto de corte: ≥ 64). Desde modo obteve-se uma prevalência geral de 15,7%, sendo 10,4% e 27,2% de área urbana e rural respectivamente (Coelho, *et al.*, 2011).

Um grupo de pesquisadores acompanhou, durante três anos (2002 a 2004), gatos errantes do parque do zoológico do Rio de Janeiro, com propósito de avaliar as condições de saúde dos animais, controlar os possíveis patógenos que circulavam nas colônias de gatos e realizar controle populacional. Um total de 75 gatos foram capturados, destes 44 foram examinados apenas uma vez, 14 animais duas vezes, e 17 animais três vezes. As amostras obtidas foram testadas para *T. gondii* por meio da técnica de HAI. Os anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados na maioria dos animais em todos os anos, com a maior taxa de prevalência em 2002 (92,1%), seguida por 2003 (63,1%) e 2004 (60,6%) (Mendes-de-Almeida *et al.* 2007).

Gatos domiciliados oriundos da região metropolitana do Rio de Janeiro foram submetidos a testes para determinação da frequência sorológica. Totalizando 154 amostras de soro analisadas por meio da técnica de HAI tendo uma frequência sorológica de 10,3% (Temoche, 2012). Na mesma região, também utilizando a técnica de HAI, Bastos *et al.* (2014) estimaram a soroprevalência de apenas 5,6% em 108 gatos domésticos. Felinos domiciliado com esporotricose, da região metropolitana do Rio de Janeiro, foram testados pelas técnicas de HAI (ponto de corte de ≥ 16) e RIFI (ponto de corte de ≥ 64) para verificar a frequência de coinfeção com *T. gondii*. Do total de 213 animais, 6,6% foram positivos nas duas técnicas, pois houve uma concordância entre as técnicas de 100% (Barros *et al.*, 2015).

No sul do Brasil, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, pesquisadores com objetivo de contribuir para um melhor entendimento do panorama da toxoplasmose felina, realizaram um estudo em 245 gatos domiciliados. A detecção de anticorpos anti-*T. gondii*, nas amostras de soros coletadas entre 2006 a 2007, As prevalências obtidas foram de 26,9% e 37,9%, pelas técnicas de HAI e RIFI, respectivamente (Pinto, *et al.*, 2009). Ainda no sul do Brasil, em Lages - Santa Catarina, um grupo de 300 gatos domiciliados foi testado pela técnica de RIFI e se obsevou que 43 (14,33%) animais eram soropositivos para *T. gondii* (ponto de corte ≥ 64) (Rosa, *et al.*, 2010). Em Curitiba, Paraná, de 282 amostras de gatos domiciliados analisadas, 46 (16,3%) foi positivo na RIFI para *T. gondii* (ponto de corte $\geq 1:16$). Entre as amostras positivas, o título 1:64 foi o mais frequente (23/46; 50%), e somente um gato novo tinha um título para 1024 (Cruz, *et al.*, 2011). As frequências de *T. gondii* em diferentes populações de gatos no Brasil segue resumida no quadro abaixo (Quadro 2).

Quadro 2 Soroprevalência da toxoplasmose em gatos domésticos no Brasil, segundo alguns artigos da literatura, de acordo com a região estudada, procedência do animal, número de amostras e técnica realizada.

LOCAL	PROCEDÊNCIA	PREVALÊNCIA GERAL	TÉCNICA	REFERÊNCIA
FERNANDO DE NORONHA	Errantes e domiciliados	(70/118) 59,3%	MAT/RIFI	Costa <i>et al.</i> , 2012
MA	Domiciliados	(101/200) 50,5%	RIFI	Braga <i>et al.</i> , 2012
RJ	Gatil público	(10/41) 24,4%	HAI/ELFA	Netto <i>et al.</i> , 2003
SP	Gatil público	(84/237) 35%	MAT	Pena <i>et al.</i> , 2006
SP	Gatil público	(100/400) 25%	RIFI	Bresciani <i>et al.</i> , 2007
SP	Domiciliados	(11/70) 15,7%	RIFI	Coelho <i>et al.</i> , 2011
RJ	Errantes	2002: (35/38) 92,1% 2003:(30/47) 63,1% 2004:(20/33) 60,6%	HAI	Mendes-de-Almeida <i>et al.</i> , 2007
RJ	Domiciliados	(16/154) 10,3%	HAI	Temoche, 2012
RJ	Domiciliados	(6/108) 5,6%	HAI	Bastos <i>et al.</i> , 2014
RJ	Domiciliados	(14/213) 6,6%	HAI/RIFI	Barros <i>et al.</i> , 2015
RS	Domiciliados	(66/245) 26,9% (93/245) 37,9%	HAI/RIFI	Pinto <i>et al.</i> , 2009
SC	Domiciliados	(43/300) 14,33%	RIFI	Rosa <i>et al.</i> , 2010
PR	Domiciliados	(46/282) 16,3%	RIFI	Cruz <i>et al.</i> , 2011

1.6.4 Prevalência de oocistos com morfologia compatível com *T. gondii* em amostras fecais

Felídeos são os únicos animais capazes de eliminar oocisto de *T. gondii* em suas fezes. Tal fenômeno, normalmente ocorre 10 dias após se infectarem. Geralmente, esta eliminação dura de 1 a 2 semanas (Dubey e Frenkel, 1972). As chances de se encontrar os oocistos nas fezes de um gato são consideradas baixas (Jones e Dubey, 2010).

1.6.4.1 Prevalência mundial

Em Pequim, na China, 23 amostras de fezes foram obtidas no período de 2009 a 2010 a partir de gatos errantes. Esses animais foram submetidos à eutanásia e tiveram o conteúdo fecal recolhido. As amostras foram processadas pela técnica de flutuação em solução saturada de sacarose. Ao final não foi identificado oocistos com morfologia compatível a *T. gondii* no material fecal dos animais (Qiana *et al.*, 2012).

Ainda no continente asiático, mais precisamente em Jerusalém, Israel, um estudo em busca de um método alternativo para a detecção de *T. gondii* nas fezes de gatos foi feito em 122 amostras. Sendo assim, foram realizadas as técnicas de flutuação em solução de sacarose e a PCR do DNA extraído das fezes. Do total de amostras, apenas 11 foram positivas na PCR enquanto que nenhum oocisto foi detectado pela microscopia (Salant *et al.*, 2007).

Na Europa, um estudo feito com 3167 gatos na Alemanha, no período de 1999 a 2002, verificou as prevalências de infecções por endoparasitos. Nas amostras de fezes de gatos domésticos foram detectados 1,1% de positividade para oocisto com morfologia compatível a *T. gondii*, por meio da técnica de flutuação (Barutzki & Schaper, 2003). Também na Alemanha, 24.106 amostras de fezes de gatos foram submetidas à técnica de flutuação de sacarose. Oocistos de 9 a 15 µm de diâmetro com morfologia semelhante à *Hammondia hammondi* e *Toxoplasma gondii* foram evidenciados em 74 amostras fecais (0,31%) na microscopia. Destas, apenas 48 amostras foram isoladas por bioensaio, sendo 0,11% confirmadas como *T. gondii* e 0,09% como *H. hammondi* (Schaes *et al.*, 2008). Ao analisar uma população urbana de gatos errantes capturados entre 1993

e 2004, na cidade de Lyon-França, 322 amostras de fezes foram processadas com as técnicas de flutuação em solução de iodomercurato de potássio, não sendo detectados oocistos de *T. gondii* (Afonso *et al.*, 2006).

Na Suíça, um total de 252 gatos (43 gatos errantes e 208 domiciliados) teve suas amostras de fezes examinadas por meio da técnica de flutuação com solução de cloreto de zinco a 44% e também a flutuação com uma solução saturada de sacarose. Em duas amostras foram detectados oocisto com diâmetro de 9 a 14 µm. O diagnóstico confirmatório para *T. gondii* foi realizado com a PCR, que demonstrou que uma amostra (0,4%) era realmente positiva para *T. gondii* e a outra para *H. hammondi* (Berger-Schoch *et al.*, 2011). Quarenta e cinco amostras de fezes de gatos domésticos de Lisboa foram coletadas a partir de caixas de areia e submetidas à técnica de PCR. Resultado positivo na PCR para oocistos de *T. gondii* foi verificado em 16 amostras, dessas 10 (22,2%) tinham resultados sorológicos negativos e seis (13,3%) positivos (Esteves *et al.*, 2014).

No continente americano, 49 amostras fezes oriundas de gatos domésticos da Virginia obtidos de animais domiciliados, domiciliados com acesso à rua e errantes foram testadas pela PCR, obtendo uma prevalência de 6% (3/49) para *T. gondii*. Neste mesmo estudo, seis resultados foram considerados falsos positivos pelo sequenciamento (Lilly & Wortham, 2013). Gatos domésticos e selvagens de zoológicos do oeste dos Estados Unidos também foram investigados para verificar a prevalência para o oocisto de *T. gondii*. No total 78 amostras fecais foram processadas por meio da técnica de flutuação em solução de sacarose e ainda submetidas ao bioensaio. Não foi detectado oocisto similar a *Toxoplasma gondii* em nenhuma das amostras (de Camps *et al.*, 2008). Já na Califórnia, gatos domésticos de gatil, atendidos em clínicas veterinárias, domiciliados e errantes foram incluídos em um estudo, totalizando 326 animais. Estes tiveram suas amostras de fezes testadas pela técnica de flutuação em sulfato de zinco, na qual obteve 0,9% de positividade para oocistos similar a *T. gondii* (Dabritz *et al.*, 2007). Na Cidade de Panamá, na Florida, Estados Unidos, um grande estudo prospectivo foi realizado para avliar a presença de do *T. gondii* na população humana e também animal, além de solo e fezes de gatos coletadas do quintal dos domicílios. Dentre as 383 amostras de fezes de gatos obtidas no estudo, apenas duas foram positivas por bioensaio em camundongos (Frenkel *et al.*, 1995).

Na América do Sul, na Colômbia, gatos domésticos do centro de controle de zoonoses foram submetidos à eutanásia. Na necropsia foram obtidos 143 conteúdos fecais de diferentes animais, que foram processados por meio da técnica de flutuação em solução de sacarose. Em nenhum material fecal foi detectado oocistos com morfologia compatível a *T. gondii* (Dubey *et al.*, 2006). Cerro *et al.* (2013) ao realizarem exames coproparasitológico pela técnica de Faust e colaboradores em 50 amostras fecais de gatos atendidos em clínicas veterinárias na região metropolitana de Lima, Peru não observaram nenhum oocisto similar a *T. gondii*. Segue no Quadro 3 de forma resumida a prevalência de oocistos descrita.

Quadro 3 Prevalência de oocisto de *Toxoplasma gondii* no mundo, segundo alguns artigos da literatura, de acordo com a região estudada, procedência do animal, número de amostras e técnica realizada.

LOCAL	PROCEDÊNCIA	PREVALÊNCIA	TÉCNICA	REFERÊNCIA
CHINA	Errantes	--- (0/23)	Flutuação*	Qian <i>et al.</i> , 2012
ISRAEL	Não informada	--- (0/122)- Flutuação 9% (11/122)- PCR	Flutuação* e PCR	Salant <i>et al.</i> , 2007
ALEMANHA	Domiciliados	1.1 % (35/3167)	Flutuação	Barutzki & Schaper, 2003
ALEMANHA	Domiciliados	0,11% (26/24.106)	Flutuação*	Schares <i>et al.</i> , 2008
FRANÇA	Errantes	--- (0/322)	Flutuação***	Afonso <i>et al.</i> , 2006
SUÍÇA	Errantes e domiciliados	0,4% (1/252)	Flutuação** e PCR	Berger-Schoch <i>et al.</i> , 2011
PORTUGAL	Domiciliados	35,5% (16/45)	PCR	Esteves <i>et al.</i> , 2014
EUA	Domiciliados	6% (3/49)	PCR	Lilly & Wortham, 2013
EUA	Zoológico	--- (0/78)	Flutuação* e bioensaio	de Camps <i>et al.</i> , 2008
EUA	Gatil público, errantes e domiciliados	0,9% (3/326)	Flutuação**	Dabritz <i>et al.</i> , 2007
EUA	Gatos domiciliados	0,5%(2/383)	Flutuação e bioensaio	Frenkel <i>et al.</i> , 1995
PERU	Domiciliados	--- (0/50)	Flutuação**	Cerro <i>et al.</i> , 2013
COLÔMBIA	Errantes	--- (0/143)	Flutuação* e bioensaio	Dubey <i>et al.</i> , 2006

* Flutuação em solução de sacarose

**Flutuação em solução de zinco

***Flutuação em solução de iodomercurato de potássio

1.6.4.2 Prevalência no Brasil

Em um estudo de biomorfologia que analisou diariamente fezes de 50 gatos domésticos de Goiânia, durante 20 dias, utilizando as técnicas de Willis, Faust e colaboradores e Sheather foram diagnosticados 10 gatos com oocistos semelhantes *T. gondii* (Barbosa *et al.*, 1973).

Em Porto Alegre, RS, Chaplin *et al.* (1991) realizaram um estudo com 15 gatos que possuíam menos de quatro meses de idade, habitavam apartamentos e eliminavam as suas fezes em caixas de areia. O material foi processado pelas técnicas de flutuação com solução de sacarose, onde foram detectado oocistos com morfologia compatível a *T. gondii* em 86,6%. Outro estudo realizado no município de Porto Alegre, que também utilizou o mesmo método de flutuação, relatou positividade de 20% (5/20) das amostras de fezes analisadas (Braccini *et al.* 1992).

No estado de São Paulo, 237 gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de 15 municípios, foram submetidos à eutanásia e na necropsia foi recolhido material fecal de cada animal. Estas amostras foram processadas por meio da técnica de flutuação em sacarose, os oocistos encontrados submetidos à esporulação e ao bioensaio em camundongos. A positividade foi de 1,7% para oocistos com morfologia similar a *T. gondii* no exame coproparasitológico, sendo duas amostras de gatos jovens e duas de gatos adultos. Contudo, apenas em três amostras (1,3%) foi possível confirmar utilizando o bioensaio à infecção por *T. gondii* (Pena, *et al.*, 2006).

No Rio de Janeiro, 54 amostras fecais oriundas de gatos participantes de um programa de castração foram examinadas por meio de duas técnicas de flutuação com solução saturada de sacarose e com solução de sulfato de zinco. Nenhuma das amostras analisadas foi detectada oocisto (Bastos *et al.*, 2014). Outra pesquisa desenvolvida na região metropolitana do mesmo estado, também não obteve resultados positivos para pesquisa de oocisto com morfologia similar a *T. gondii*. Neste foram coletadas 50 amostras fecais fixadas em solução de Raillet & Henry, que foram submetidas à técnica de Faust e colaboradores (Temoche, 2012). A frequência de oocistos de *T. gondii* e/ou com morfologia similar, descrita neste parágrafo segue resumida no quadro 4.

Quadro 4 Prevalência de oocisto de *Toxoplasma gondii* no Brasil, segundo alguns artigos da literatura, de acordo com a região estudada, procedência do animal, número de amostras e técnica realizada.

LOCAL	PROCEDÊNCIA	PREVALÊNCIA	TÉCNICA	REFERÊNCIA
GO	Biotério	--- (0/50)	Flutuação*/**/**	Barbosa <i>et al.</i> , 1973
RS	Domiciliados	86,6% (13/15)	Flutuação*	Chaplin <i>et al.</i> , 1991
RS	Domiciliados	20% (5/20)	Flutuação*	Braccini <i>et al.</i> 1992
SP	Errantes	1,7%(4/237)- Flutuação 1,3% (3/237)- Bioensaio e PCR	Flutuação*, Bioensaio e PCR	Pena, <i>et al.</i> , 2006
RJ	Domiciliados	---(0/54)	Flutuação*/**	Bastos <i>et al.</i> , 2014
RJ	Domiciliados	---(0/50)	Flutuação**	Temoche, 2012

* Flutuação em solução de sacarose

**Flutuação em solução de zinco

***Flutuação em solução de cloreto de sódio

1.6.4.3 Surtos de toxoplasmose com o possível envolvimento de população de gatos domésticos

A ocorrência de surtos de toxoplasmose não é freqüente, isto pode ser devido à infecção caracterizar-se por ser predominantemente assintomática ou subclínica tanto em humanos quanto em animais. Desta forma, existem dificuldades no diagnóstico clínico, por serem seus sinais e sintomas comuns a outras afecções, necessitando de confirmação laboratorial e posterior notificação (Lopes & Berto, 2012). Dentre os surtos que ocorreram no Brasil, dois deles chama a atenção por ter tido o provável envolvimento do gato, como o que ocorreu em Santa Isabel do Ivaí, Paraná, em 2002 e Monte Dourado, Pará, em 2004.

O surto de Santa Isabel do Ivaí, Paraná, foi o primeiro comprovadamente causado pela água no Brasil. Em um período de novembro de 2001 a janeiro de 2002, 426 habitantes apresentaram sorologia compatível com toxoplasmose aguda. Dentre esses, sete eram gestantes, na qual uma resultou em aborto e as outras seis tiveram os fetos infectados. Uma das crianças infectadas durante a gestação apresentou alterações congênitas graves que levaram ao óbito.

Além de 14 casos com alterações sugestivas de toxoplasmose ocular, dos 176 analisados (FUNASA, 2002; Dias & Freire, 2005). Este surto ocorreu devido à

contaminação de um reservatório de água que abastecia a cidade. A água era captada em poço artesiano e não passava por processos de coagulação ou filtração, sendo apenas clorada. Houve relatos que um gato doméstico vivia dentro da casa de máquinas, em cima do reservatório, o mesmo apresentou sorologia positiva para toxoplasmose. Além dos indícios epidemiológicos que sugerem a participação do gato, oocistos de *T. gondii* foram recuperados em uma caixa d'água de uma escola pública do município. O reservatório apresentava várias infiltrações e vazamentos, possibilitando a contaminação da água com oocistos (FUNASA, 2002). Dubey *et al.* (2004) ao tentar confirmar a participação dos gatos da região no surto de toxoplasmose, realizaram um estudo em 58 gatos domésticos do município. Os tecidos de 54 gatos foram submetidos à bioensaio em gatos e camundongo obtendo o parasita isolado em 37 das amostras.

O outro surto ocorreu no Distrito de Monte Dourado, Pará, no período de 20 de fevereiro a 10 de março de 2004, onde inicialmente cinco funcionários de uma empresa multinacional produtora de celulose apresentaram os primeiros sintomas de toxoplasmose. Com o aparecimento de outros casos semelhantes na localidade, a empresa solicitou ao Instituto Evandro Chagas (IEC) orientações de como proceder. Foram avaliados 186 indivíduos, destes 40 (21,5%) apresentaram perfil sorológico de toxoplasmose aguda. A análise epidemiológica indicou que os casos poderiam estar vinculados à infecção com oocistos eliminados nas fezes dos felinos, devido à elevada população de gatos no local. (Carmo *et al.*, 2010).

1.7 Prevenção e controle da Toxoplasmose em gatos

Os oocistos esporulados possuem parede altamente impermeável e, portanto, muito resistentes a desinfetantes (Dumetre & Darde, 2003). No entanto os oocistos esporulados são facilmente eliminados dos legumes quando cozidos a 55 °C a 60 °C por um a dois minutos (Dubey, 2010). O cozimento dos cistos sob um período de tempo prolongado é necessário sob condições de uso doméstico, para conseguir eliminar todos os cistos na carne. Eles normalmente são mortos imediatamente quando aquecidos a 67 °C, porém ainda permanecem viáveis a 60 °C durante cerca de 4 minutos e a 50 °C durante cerca de 10 min (Dubey *et al.*, 1990; Jones, *et al.*,

2009; Robert-Gangneux & Dardé, 2012). Com esse mesmo intuito têm-se os procedimentos comerciais de cura com sal, sacarose, ou baixa temperatura, mas o tempo de sobrevivência de cistos no tecido varia de acordo com a concentração da solução e a temperatura de armazenamento. Em condições laboratoriais, as soluções que contêm 2% de cloreto de sódio, 1,4% de potássio ou lactato de sódio são eficazes dentro de 8 horas para a morte dos cistos teciduais de *T. gondii* em lombo de suíno (Hill, *et al.*, 2006). Outros processos de tratamento de alimentos, tais como a irradiação gama e alta pressão foram consideradas eficientes para a morte dos cistos teciduais em carne, mas estes procedimentos são pouco aplicáveis ao produto cárneo destinado ao consumo (Lindsay *et al.*, 2006).

Proprietários de gato podem prevenir ou, pelo menos, reduzir o risco de exposição dos seus animais de estimação adotando algumas medidas na sua criação como: não alimentar gatos com carne crua; controlar potenciais hospedeiros intermediários tais como roedores e impedindo o hábito do gato em ir à rua (Dabritz, *et al.* 2008). Condutas de higiene pessoal devem ser seguidas, não devendo fornecer aos animais à água de lagos, poços e rios, que não passem por um tratamento prévio (Galvão, *et al.*, 2014). É importante ressaltar que, a limpeza das caixas de areia dos gatos domésticos diariamente, para evitar a esporulação do oocisto, já que é preciso pelo menos um dia para esta forma evolutiva esporule e se torne infectante e assim infectar outros felinos que vivem no mesmo ambiente (Elmore, *et al.* 2010).

O desenvolvimento de uma vacina para evitar a eliminação de oocistos pelos felinos está em andamento. Cabe ressaltar que a maioria desses projetos trabalham com o protozoário vivo. Estas vacinas apresentam algumas desvantagens, incluindo a sua vida útil limitada e o risco de infecção para os seres humanos que irão manipulá-las. A estirpe S48 Toxovax® é uma vacina viva, originalmente desenvolvida para uso em ovelhas, mas quando utilizada em gatos, inibe o desenvolvimento sexual de *T. gondii*. Assim, o sistema imune reage com a cepa do parasito, tornando os felinos incapazes de produzir oocistos (Dubey, 2010).

1.8 Tratamento em gatos sintomáticos

Em gatos, a clindamicina é o tratamento de escolha e deve ser administrada em 12,5 a 25 mg/kg de peso por via oral ou intramuscular, a cada 12 horas durante 4 semanas. E ainda pode ser associado a trimetropina-sulfonamida 30mg/kg por via oral, a cada 12 horas, durante 4 semanas. Gatos com doença sistêmica e uveíte devem ser tratados em combinação com corticóide tópico e orais para evitar danos decorrentes da inflamação (Lappin, 2010).

Barbosa *et al.* (2012) realizaram estudos *in vitro* e *in vivo* em modelos experimentais, utilizando a enrofloxacin no tratamento da toxoplasmose, que se mostrou eficaz sem muitos efeitos colaterais, podendo ser uma importante alternativa no tratamento da toxoplasmose.

1.9 Justificativa

O aumento da população de habitantes nos grandes centros urbanos associado a uma carga de trabalho intensa e exaustiva favorece com que muitas pessoas escolham um animal de estimação mais independente, como o gato doméstico. Segundo o IBGE (2013), nos últimos anos a quantidade de animais de estimação tem aumentado e conseqüentemente a população de animais abandonados também. Gatos abandonados tornam-se candidatos a viverem nas ruas, sendo considerados errantes, podendo ser resgatados por profissionais de gatis públicos ou filantrópicos. Sabe-se que os felídeos são os hospedeiros definitivos do protozoário zoonótico *Toxoplasma gondii* e por isso são capazes de eliminar os oocistos nas fezes, contaminando o ambiente. Mesmo sabendo da importância do gato doméstico na manutenção do ciclo biológico dessa parasitose, ainda são poucos os estudos que avaliam a positividade desse parasito em populações de felinos errantes e de cativos em gatil público. Tal fato demonstra a necessidade de avaliar o perfil epidemiológico da infecção por esse protozoário em gatos domésticos cativos e errantes no Rio de Janeiro-RJ.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar o perfil epidemiológico da a infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos (*Felis catus*) cativos e errantes no estado do Rio de Janeiro.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a frequência sorológica de *Toxoplasma gondii* em gatos cativos mantidos em um gatil municipal;
- Determinar a frequência sorológica de *Toxoplasma gondii* em gatos errantes em um conjunto de condomínios do município do Rio de Janeiro;
- Estabelecer o grau de concordância entre as técnicas sorológicas de hemaglutinação indireta e reação de imunofluorescência indireta para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* nos gatos estudados;
- Verificar a soroconversão para *Toxoplasma gondii* nos gatos cativos e nos errantes após o intervalo de aproximadamente no mínimo quatro meses e no máximo oito meses;
- Comparar o perfil soropidemiológico, bem como a soroconversão, dos dois grupos de felinos estudados e
- Detectar a frequência de oocistos com morfologia compatível com *Toxoplasma gondii* nas fezes dos gatos domésticos estudados, por meio de técnicas coproparasitológicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

Este estudo é um subprojeto do projeto intitulado: “Investigação da Cadeia Epidemiológica da toxoplasmose por meio da caracterização genética das linhagens de *Toxoplasma gondii* em animais domésticos e silvestres do Estado do Rio de Janeiro” do Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses (LabTOXO). Este projeto foi aprovado no dia 02 de dezembro de 2013 pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fiocruz na licença LW 53/13 (P-24/13.7) com validade até 02 de dezembro de 2017.

A Secretaria Especial de Promoção e Defesa dos Animais (SEPDA) do Rio de Janeiro e a Associação de Amigos do Península (ASSAPE) estabeleceram a parceria com o Laboratório de Toxoplasmose e outras protozooses por meio de um termo de anuência, autorizando assim, o desenvolvimento da pesquisa nas respectivas unidades. Mediante a isso, foi permitido a coleta de 4 mL de sangue dos gatos inclusos no estudo, para a realização de testes sorológicos, e de fezes para realização de testes coproparasitológicos. Ambos permitiram que uma alíquota do material biológico permanecesse armazenada no LabTOXO para futuras pesquisas.

Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas, dados e as amostras coletadas ficarão armazenados no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses sob a responsabilidade da Dra. Maria Regina Reis Amendoeira e Pâmela Figueiredo Pereira.

Um folder registrado por meio de formulário de solicitação de obra autoral, sobre a toxoplasmose felina foi feito com objetivo de esclarecer sobre o assunto, para serem entregues aos proprietários e profissionais que manipulam os gatos domésticos (Anexos 1 e 2).

3.2 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo analítico observacional longitudinal no período de agosto de 2014 e outubro de 2015. Os animais participantes desta pesquisa foram submetidos a coletas de amostras biológicas de sangue e fezes em dois períodos distintos. O primeiro período foi realizado após a aplicação de um *microchip* para identificação do animal. Já o segundo ocorreu após um intervalo de, no mínimo quatro meses e no máximo oito meses, da primeira coleta. A identificação do animal na segunda coleta só foi possível com a leitura do *microchip* aplicado anteriormente em cada animal (Figura 5).

Neste fluxograma estão ressaltadas as principais etapas que foram desenvolvidas no estudo (Figura 4).

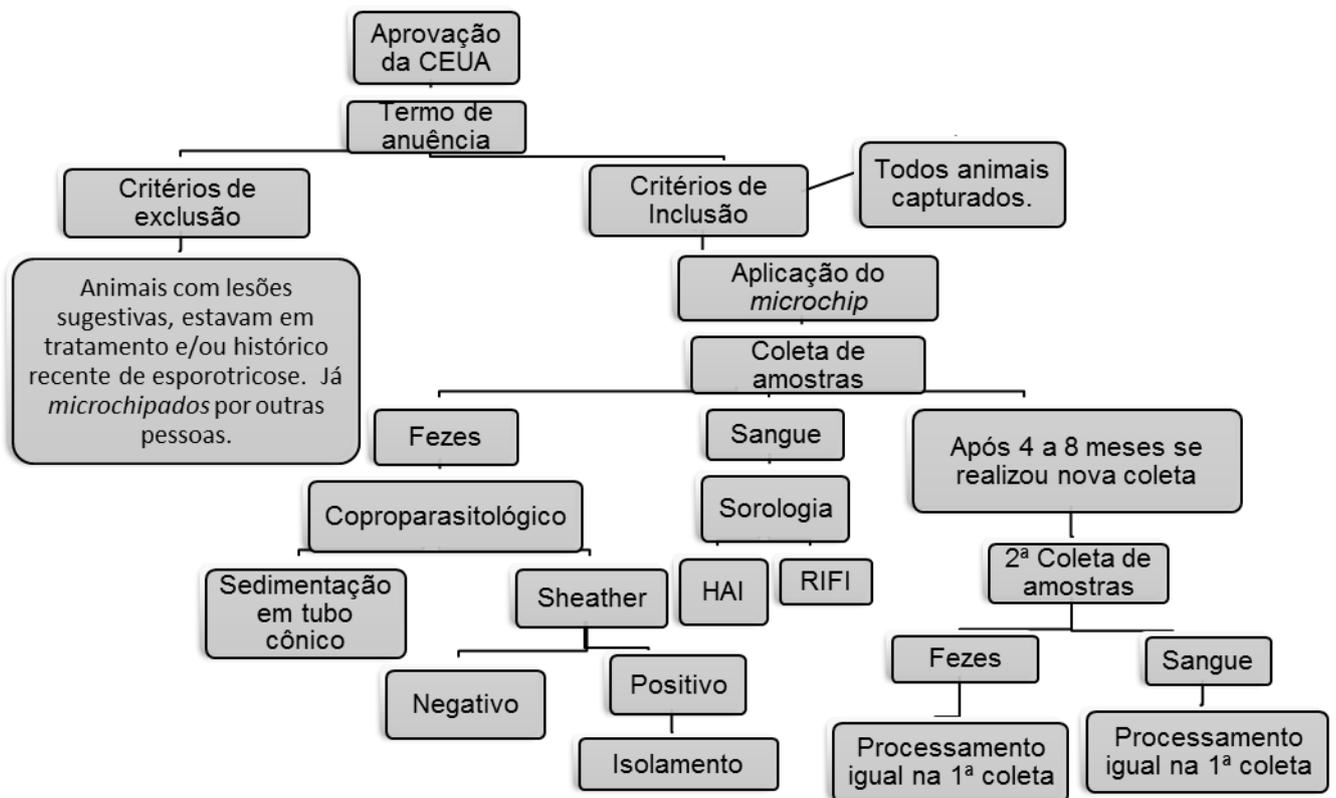


Figura 4 Fluxograma das etapas do estudo em gatos errantes e cativos do município do Rio de Janeiro.

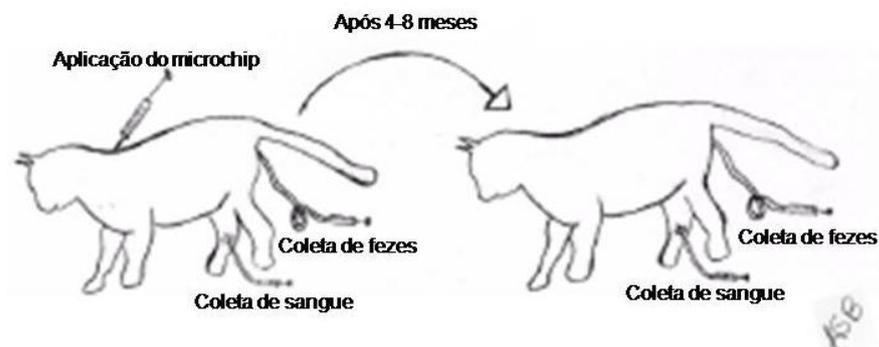


Figura 5 Primeiro e segundo período de coleta. (Fonte: Alynne Silva Barbosa, 2015)

3.3 Área de estudo

As populações de gatos estudadas foram as que habitam na Fazenda Modelo, situada no bairro de Guaratiba, e a do conjunto de Condomínios Península, situado no bairro da Barra da Tijuca. Ambas estão situadas na zona oeste do município do Rio de Janeiro, apesar dos gatos domésticos da Fazenda Modelo serem oriundos de diversas áreas do município (Figura 6). O clima predominante da região é o tropical semi-úmido, com chuvas abundantes no verão quente e invernos secos. Seu bioma é a de Mata Atlântica no qual a vegetação é heterogênea, normalmente composta por árvores altas (Portal Brasil, 2009).

Em geral, os meses de dezembro, janeiro, fevereiro e março são os mais quentes, aonde as temperaturas máximas chegam acima de 30°C. Nos meses intermediários como abril, maio, outubro e novembro as temperaturas mínimas variam entre 22 a 20°C e máximas entre 28 a 26°C. No entanto, os meses de junho, julho, agosto e setembro são os mais frios com temperatura mínima em torno de 18°C (INMET, 2010).

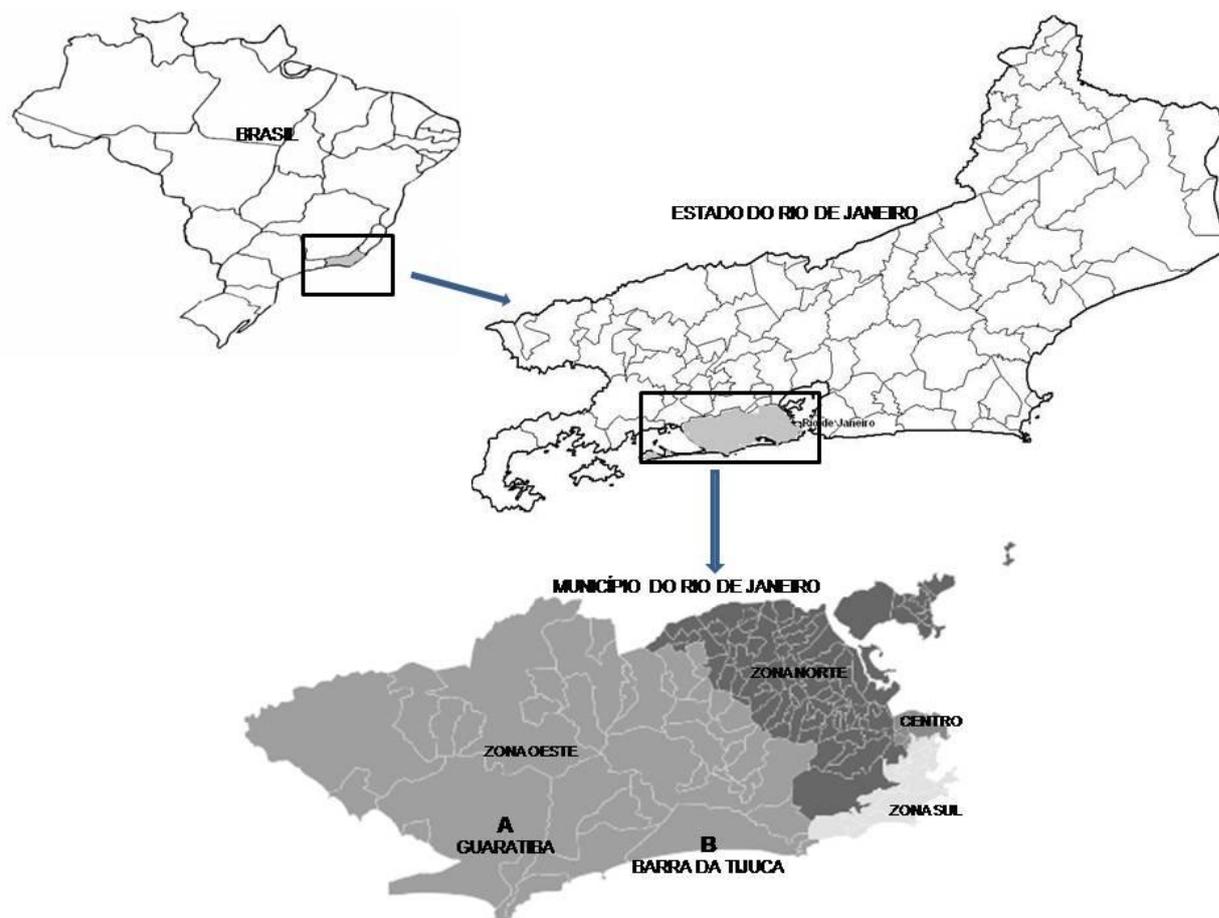


Figura 6 Representação da localização das áreas de estudo. **A.** Guaratiba onde está situado o gatil Fazenda Modelo. **B.** Barra da Tijuca onde está situado onde está situado o Condomínio Península. (Fonte: CEPERJ adaptado, 2013)

3.3.1 Fazenda Modelo

A Fazenda Modelo está situada na Estrada do Mato Alto, número 5620, ao lado do Posto de Saúde Maia Bittencourt, no bairro de Guaratiba. É a principal estrutura da Secretaria Especial de Promoção e Defesa dos Animais (SEPDA), que oferece diversos serviços veterinários e de apoio aos animais para a população do município do Rio de Janeiro (Figura 7). A Fazenda possui uma área de 13.000 m², sendo constituída por áreas administrativas, Centro Clínico e Cirúrgico (CECLIN), Centro de Manejo de Cães (CANIL), Centro de Manejo de Gatos (GATIL) e Centro de Manejo de Equinos (CURRAL). Os abrigos da SEPDA são responsáveis por receber animais vítimas de maus-tratos e abandono, enviados pela secretaria, sendo que após um período de quarentena no local são disponibilizados para adoção.

O Centro de Manejo de Gatos (GATIL) possui instalações para acomodação dos animais e uma área que funciona para suporte clínico, onde permanecem os animais que estão em tratamento. O gatil possui uma área extensa de 5,148 m² contendo um assoalho coberto com grama, com algumas árvores, onde se encontram diversos recintos para os animais, que podem ser do tipo "casinhas" de alvenaria. Além de manilhas de concreto que também funcionam como abrigo e enriquecimento ambiental. O gatil é subdividido por cercas de alumínio em áreas menores. Estas áreas são interligadas por um pequeno corredor de passagem que possui dois portões que abrem nos dois sentidos. Todo o espaço do gatil é limitado por cercas altas que contém chapas de alumínio em sua porção superior para evitar as fugas dos animais. As árvores, assim como as cercas, também possuem telas em suas partes superiores para evitar que os animais escalem ou até mesmo que outros animais entrem na área reservada para os gatos cativos (Figuras 8 e 9).

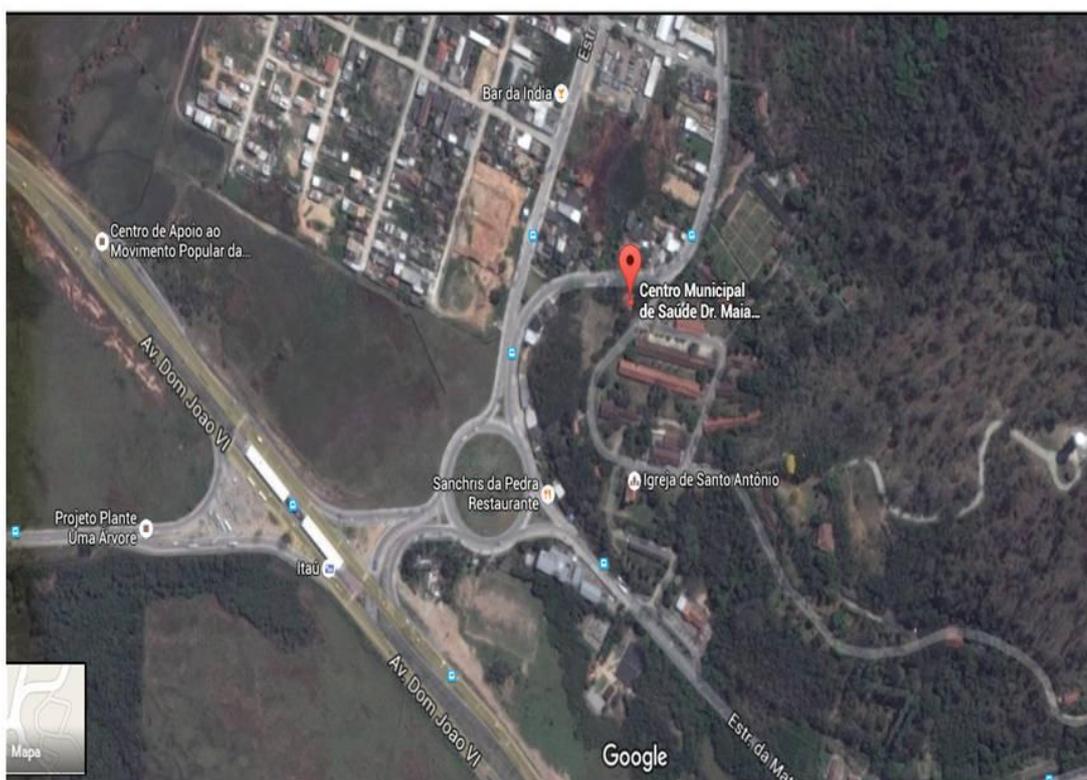


Figura 7 Imagens via satélite da localização da Fazenda Modelo. (Fonte: Google maps, 2015)



Figura 8 Ilustração do gatil Fazenda Modelo. **A.** Área do gatil subdivida por cercas de alumínio interligadas por corredor de passagem. **B.** Entrada principal do gatil e abrigos de alvenaria. **C.** Parte interna do recinto de alvenaria. **D.** Recinto de madeira tipo casinha (Fonte: Originais da Autora).



Figura 9 Ilustração do gatil Fazenda Modelo. **A.** Manilhas concreto. **B.** Árvore e cerca com chapa de alumínio na parte superior. **C.** Árvores com chapa de alumínio (Fonte: Originais da Autora).

3.3.2 Conjunto de Condomínios Península

O conjunto de condomínios Península é considerado um sub-bairro da Barra da Tijuca do Rio de Janeiro que possui uma área de 780.000 m², formado por um conjunto de condomínios com uma população estimada de 36.000 pessoas, tendo uma pequena área construída (Figura 10). A área do conjunto de condomínios Península tem sido tomada por novas construções, que são ocupada principalmente pela por pessoas com poder aquisitivo elevado.

O projeto de paisagismo do Península foi uma obra que teve como objetivo o uso do desenvolvimento sustentável, com ocupação consciente do terreno, sendo um projeto único no Brasil de preservação constante dos jardins do condomínio como incentivo à fauna nativa da região, sendo localizado dentro da Lagoa da Barra

da Tijuca onde possui acesso por terra e por água. O conjunto de condomínios é cercado de vegetação de restinga e manguezais recuperados, flora e fauna típicas da região, tendo dois parques com 45.000 m² cada um, cinco jardins temáticos e 3 km de trilha ecológica urbana plana, ao longo do único manguezal preservado em espaço urbano do Rio de Janeiro (Carvalho Hosken, 2013) (Figura 11 A, B e C).

No Península há diversos ambientes que são dispostos para os gatos domésticos errantes. Esses ambientes são localmente conhecidos como "ilhas de gatos". Cabe ressaltar que toda a estrutura do conjunto de condomínios é administrada pela Associação de Amigos da Península (ASSAPE), que são responsáveis pelo manejo dessas ilhas. Ao todo foram registradas dez ilhas, que são constituídas de casinhas de plástico ou de madeira arrumadas sobre paletes, além de manilhas de concreto e tubos de aço, que funcionam como abrigo e enriquecimento ambiental. Dentro das casinhas e manilhas há comedouros e bebedouros de plásticos tipo *nipple*, que permite o fornecimento gradativo do alimento e da água (Figuras 11D e 12).



Figura 10 Imagens via satélite da localização da Fazenda Modelo. (Fonte: Google maps, 2015)



Figura 11 Ilustração do Península. **A.** Trilha ecológica. **B.** Lagoa da Barra da Tijuca e mata costeira. **C.** Área de manguezal em recuperação. **D.** Gato errante na trilha ecológica (Fonte: Originais da Autora).



Figura 12 Ilustração do Península. **A.** Tubos de aço na trilha ecológica. **B.** Manilha de concreto com comedouro no seu interior. **C.** Ilha de gato com casinha de plástico e comedouro no interior e bebedouro tipo *nipple* no exterior (Fonte: Originais da Autora).

As ilhas estão posicionadas estrategicamente em locais do Península, onde há geralmente estruturas paisagísticas que apresentam elementos naturais, que preservam as características da região. Nestes locais observa-se uma extensa área de solo desnudo (areia e terra batida), grama e árvores. Cada "ilha" é identificada pelos nomes dos condomínios ou pontos de referências que estão situados próximos a elas, sendo denominadas de: *Fit*, *Green Bay*, *Royal Green*, *Atmosfera* (Figura 13), *Jardim das Esculturas*, *Bernini*, *Jardim do Zen*, *Aquarela* (Figura 14), *Assape* e *Way* (Figura 15). Estas foram demarcadas e plotadas em um mapa, tendo como base a área do Península, que segue abaixo (Figura 16)



Figura 13. Ilustração das ilhas de gato do Península. **A.** Ilha Fit. **B.** Ilha Green Bay. **C.** Ilha Royal Green. **D.** Ilha Atmosfera (Fonte: Originais da Autora).



Figura 14 Ilustração das ilhas de gato do Península. **A.** Ilha Jardim das Esculturas. **B.** Ilha Benini. **C.** Ilha Jardim do Zen. **D.** Ilha Aquarela (Fonte: Originais da Autora).



Figura 15 Ilustração das ilhas de gato do Península. **A.** Ilha sede Assape. **B.** Ilha Way (Fonte: Originais da Autora).

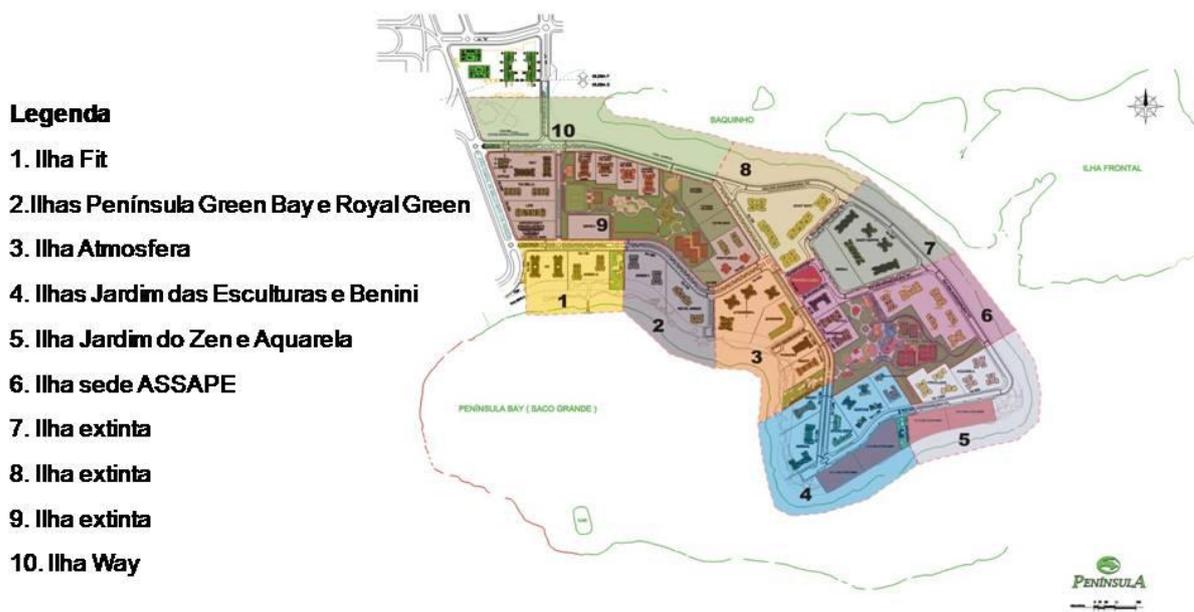


Figura 16 Mapa do Península com as localizações das ilhas de gatos (Fonte: ASSAPE adaptado, versão 8. 2008).

3.4 População do estudo

A proposta do estudo foi desenvolvida em duas populações de gatos domésticos distintas, uma cativa da Fazenda Modelo e outra errante, animais em vida livre do conjunto de Condomínios do Península.

3.4.1 Fazenda Modelo - Gatos cativos

A maioria dos gatos domésticos cativos do gatil da Fazenda Modelo corresponde a gatos resgatados de ruas do município do Rio de Janeiro ou de posses irresponsáveis e, ainda, de animais que são abandonados no local. Estes gatos não possuem históricos disponíveis, o que dificulta a obtenção de qualquer informação sobre eles (Figura 17).

Os gatos clinicamente saudáveis são mantidos em um grande grupo no gatil, onde a maioria dos animais são castrados. Na rotina do gatil os animais recebem alimentação seca industrializada (ração) e água potável, e são manejados diariamente por tratadores. Todos os animais recebem anualmente a vacina anti-

rábica, serviço médico veterinário a disposição e, esporadicamente, recebem antiparasitários intestinais. Os animais que apresentam alguma alteração clínica são isolados em recintos na área de suporte sendo submetidos a tratamentos específicos.

A comida e a água são disponibilizadas em comedouros e bebedouros do tipo rasos nos recintos de alvenaria e nas casinhas, onde os gatos também dormem e se abrigam do tempo. Os animais utilizam o próprio ambiente do gatil para realizar as suas dejeções, sendo as fezes esporadicamente recolhidas do assoalho de terra pelos tratadores.



Figura 17 Gatos domésticos cativos do gatil estadual Fazenda Modelo. (Fonte: Originais da Autora).

3.4.2 Condomínio Península - Gatos errantes

A população de gatos domésticos aumentou na Barra da Tijuca durante a expansão da construção civil, pois eram vistos como um controle da população de ratos nas obras de edifícios. Contudo ao término das obras, os gatos permaneceram nas redondezas e reproduziram sem nenhum controle. O fato do gato doméstico, ainda possuir seus instintos de caça favoreceu a sua manutenção nesse ambiente de mata nativa ainda muito preservada. Dessa forma, a população de gatos em vida livre se estabeleceu na maioria dos condomínios da Barra da Tijuca.

Esses gatos errantes habitam o conjunto de Condomínios do Península. Por viverem em vida livre em um ambiente de vegetação e restinga, muitos desses animais estão adquirindo um comportamento feral¹. Esses animais recebem alimentação industrializada (seca e úmida) e água potável, que são fornecidas matinalmente nos bebedouros e comedouros em suas ilhas por um tratador contratado pela ASSAPE (Figura 18).

Os gatos domésticos do condomínio não recebem acompanhamento médico veterinário, não são tratados com antiparasitários intestinais e nem vacinados. Quando adoecem são capturados, mantidos em recintos individuais tipo gaiola, sendo encaminhados para serviços médicos veterinários. Atualmente os gatos estão sendo capturados e encaminhados para castração.

¹ Gato feral: é um felino que retornou ao estado selvagem. São gatos domésticos que se perderam de casa e/ou foram abandonados e forçados a aprender a viver nas ruas ou em ambientes com pouco contato humano (Neighborhood cats, 2015).



Figura 18 Gatos errantes do condomínio Península (Fonte: Originais da Autora).

3.5 Tamanho amostral

O número de gatos estudados da Fazenda Modelo foi correspondente ao total de animais presentes no gatil no período da primeira coleta. Já no conjunto de condomínios Península, optou-se em trabalhar por amostragem por conveniência, devido à dificuldade de se determinar o número total de animais existentes em vida livre. Portanto foram incluídos na amostragem todos os gatos domésticos capturados no Península, no período da primeira coleta.

Os animais da Fazenda Modelo e os do Península incluídos no primeiro período de obtenção de amostras foram automaticamente incluídos como participantes do segundo período do estudo.

Foram excluídos da amostragem os gatos domésticos que apresentavam clínica com lesões sugestivas, estavam em tratamento e/ou histórico recente de esporotricose. Também foram excluídos os gatos que foram *microchipados* por outras pessoas e aqueles que não foram possíveis de serem capturados e/ou contidos com os equipamentos disponíveis.

Na primeira etapa do estudo, na Fazenda Modelo, os gatos foram *microchipados* e submetidos à coleta de sangue, totalizando 261 animais. Neste período não foi realizada a coleta de amostras fecais dos animais, devido às dificuldades de gestão e às interferências dos protetores dos animais. Já na segunda etapa do experimento foram recuperados 94 animais *microchipados*, que foram submetidos à punção venosa para coleta de sangue. Desses animais também foi obtido material fecal, totalizando 91 amostras. A coleta de fezes dos gatos no segundo período do experimento foi possível devido à mudança de gestão na secretaria de proteção e defesa dos animais que facilitou o desenvolvimento da pesquisa.

No Península, a primeira etapa de obtenção de material biológico resultou em 172 amostras de sangue e fezes dos gatos errantes. Desse grupo foram recapturados no segundo período do estudo apenas 56 gatos *microchipados*, que também foram submetidos à coleta de material. (Quadro 5)

Quadro 5 Resumo do tamanho amostral das populações de gatos doméstico estudadas, no período de agosto de 2014 a outubro de 2015.

Local	1ª Período de coleta		2º Período de Coleta	
	Sangue (Nº)	Fezes (Nº)	Sangue (Nº)	Fezes (Nº)
Fazenda Modelo	261	0	94	91
Península	172	172	56	56

3.6 Captura e contenção dos animais

Para facilitar a aproximação, tanto com o grupo de gatos cativos quanto com o grupo de errantes, foram utilizadas iscas de alimentos úmidos industrializados representados por patês e sachês de diversos sabores. Após a atração, seguia-se a captura com auxílio de rede específica denominada puçá feito pelos tratadores.

No grupo de gatos errantes, por serem animais em vida livre e com comportamento feral, as iscas de alimentos foram fornecidas dentro das casinhas, que já estavam adaptadas previamente com armadilhas.

Estas armadilhas foram artesanalmente produzidas pelo próprio tratador, sendo constituídas de telas, grades, madeiras, lacres de segurança de plástico, grampos de fixação tipo C e linha de nylon. Funcionavam manualmente, de modo que, quando os gatos errantes se alimentavam, a armadilha era desarmada, fechando a saída da casinha (Figura 19). Posteriormente, esses gatos eram apanhados com o puçá e colocados em caixas de transporte, sendo encaminhados para um *container* previamente preparado para manuseio do animal.



Figura 19 A. Armadilha na casinha da ilha Fit. B. Armadilha na casinha da ilha Jardim das Esculturas (Fonte: Originais da Autora).

Para a aplicação do *microchip* e/ou coleta de amostras biológicas, os gatos foram submetidos a processo de contenção física com a utilização de cambão de alumínio, toalhas e luvas de couro. Após a realização de todos os procedimentos, membros da equipe retornavam com os animais para o mesmo local onde foram capturados (Figura 20).



Figura 20 Gato retornando para sua ilha no Conjunto de Condomínio Península (Fonte: Originais da Autora).

3.7 Aplicação do *microchip*

Inicialmente o corpo do gato foi submetido a uma varredura com o leitor de *microchip* da *Virbac BackHome BioTec®* modelo *v500* para averiguar a possível presença de *microchips* de uma prévia marcação. Nos casos que os animais não possuíam *microchips*, para identificação do animal, foi realizado a aplicação de um *microchip* do tipo agulhado estéril da *AnimallTAG®*, com dimensão de 2 mm de diâmetro por 12 mm de comprimento. A aplicação deste sistema foi realizada por via subcutânea na região dorsal do animal, entre as escápulas e próximo ao pescoço, por meio de um aplicador no formato de seringa. Após esse procedimento, a região dorsal do gato foi novamente submetida à varredura com o leitor para certificação da correta aplicação e/ou funcionamento do *microchip*. Toda esta etapa permitiu identificar os animais posteriormente utilizando o leitor (Figura 21).



Figura 21 Ilustração da aplicação do *microchip*. **A.** *Microchip* agulhado acoplado no aplicador e leitor específico. **B.** Aplicação do *microchip* na região dorsal do animal. **C.** Leitura. (Fonte: Originais da Autora).

3.8 Coleta de sangue

Foi coletado um volume de 4 mL de sangue periférico de cada animal participante do estudo. Na maioria dos gatos, a coleta de sangue foi realizada por punção da veia femoral ou poplítea na face medial do membro com a utilização de escalpe descartável *BD Vacutainer Safety-Lok® Blood Collection Set 25G x 3/4" x 7"* de dimensões (0,5 x 19 mm x 178 mm) (Figura 22 B e C). Em animais com sistema venoso pouco acessível foi preconizado a punção do sangue pela veia jugular com agulha descartável *BD PrecisionGlide® 26G x 1/2"* de dimensões (0,45 x 13 mm).

Após a coleta, o material foi transposto para tubo de coleta sem anticoagulante *BD Vacutainer serum®* (Figura 22 A e D). As amostras foram identificadas por número sequencial do banco de dados que está relacionado com a

identificação do animal pelo *microchip*. Elas inicialmente foram acondicionadas à temperatura ambiente para permitir a formação e retração do coágulo, sendo posteriormente acondicionadas em caixas térmicas com gelo reciclável e transportadas para o Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses do IOC/Fiocruz.



Figura 22 Ilustração da coleta de sangue no Península. **A.** Material da coleta de sangue. **B.** Punção da veia femoral e/ou poplítea **C.** Coleta de sangue do membro posterior esquerdo do gato. **D.** Transferência do sangue da seringa para tubo sem anticoagulante previamente identificado (Fonte: Originais da Autora).

3.9 Coleta de fezes

A coleta de fezes foi realizada por meio de lavagem da ampola retal com três mL de solução fisiológica. Esta lavagem foi realizada com auxílio de sonda uretral estéril com 40 cm de comprimento, calibre de número 10 Fr, com um furo lateral,

sendo provida na outra extremidade de um conector padrão (Figura 23 B e C). Todas as sondas foram previamente lubrificadas com óleo mineral, para facilitar a introdução da mesma no reto e assim minimizar o desconforto do animal (Figura 23 A). Após a lavagem, a solução fecal foi transferida para tubos de fundo cônico de polipropileno de 15 mL, sendo identificada com etiquetas contendo o número referente de cada animal. O transporte do material fecal foi realizado da mesma forma descrita para as amostras de sangue, sendo encaminhadas para o Laboratório de Parasitologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense (UFF).



Figura 23 Ilustração da coleta de fezes no Península. **A.** Material da coleta de fezes. **B.** Coleta com auxílio de sonda lubrificada com óleo mineral acoplada a seringa com solução fisiológica. **C.** Transferência do material fecal para tubo cônico identificado. (Fonte: Originais da Autora)

3.10 Pré - processamento e armazenamento das amostras de sangue

No Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses as amostras de sangue foram centrifugadas por 5 minutos a 2232 g, para separação do coágulo e obtenção do soro. Após esse processamento, alíquotas do material biológico foram transferidas para microtubos do tipo *ependorff*® de 1,5mL, que foram identificados com etiquetas contendo o número de identificação de cada felino. Todos os microtubos foram armazenados em *freezers* a -20°C até a realização dos testes sorológicos.

3.11 Processamento das amostras séricas

As amostras de soro foram processadas para pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii*, no LabTOXO, por meio dos métodos de Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e Hemaglutinação indireta (HAI) (*Kit Toxotest-HAI*®, Wiener) (Figura 25 A).

3.11.1 Hemaglutinação indireta

A técnica de HAI foi realizada utilizando o protocolo recomendado pelo *Kit Toxotest-HAI*®. Esta se baseia na propriedade dos anticorpos anti-*T. gondii* em produzir aglutinação na presença de glóbulos vermelhos sensibilizados com antígenos citoplasmáticos e de membrana do parasito.

- Preparação prévia

O antígeno HAI foi preparado com 5,2 mL de reconstituente HAI, uma hora antes do uso, agitando energicamente a cada 20 minutos para permitir uma reidratação correta do reagente. O eritrócito de carneiro não sensibilizado (GR não sensibilizado) foi homogeneizado suavemente antes do uso, evitando a formação de espuma. O diluente de soros HAI foi obtido da adição de 0,2 mL de solução protéica

a cada 10 mL de tampão HAI. Os controles positivo e negativo estão contidos no *Kit* já prontos para uso.

- Procedimento

Empregou-se microplacas novas primo utilizadas, disponibilizadas pelo fabricante do *Kit*, com cavidades de fundo em U com 96 poços. Uma gaze umedecida foi passada na base da placa.

Titulação sem 2-Mercaptoetanol

- Com a micropipeta multicanal foi adicionado 25 μ L de diluente de soros HAI em todas as cavidades da microplaca;
- Foram acrescentadas alíquotas de 25 μ L de cada soro nas cavidades correspondente da coluna 1 (Figura 25 B);
- Realizou-se diluições a partir da coluna 1 (diluição 1/2), passando os microdiluidores à coluna 2 (diluição 1/4) e assim sucessivamente até a coluna 6 (diluição 1/64). Quando processados mais de oito soros, utilizaram-se as colunas 7 a 12, realizando as diluições da maneira descrita anteriormente;
- Foram adicionadas nas colunas 1 e 2 (diluições 1/2 e 1/4) 25 μ L de GR não sensibilizados, para controle de heterofilia. Esta etapa foi repetida nas colunas 7 e 8, quando foram utilizadas;
- Nas demais cavidades foram depositadas 25 μ L de antígeno HAI;
- A microplaca foi submetida a agitação, sendo levemente golpeada com os dedos nas paredes laterais durante 30 segundos no mínimo;
- A placa permaneceu em repouso, ao abrigo de vibrações, durante 90 minutos;
- A partir dos 90 minutos, foi possível realizar a leitura visual (Figura 24 e 25 C);
- Interpretação dos resultados
Títulos \geq 16 significam maior probabilidade de infecção toxoplasmática.

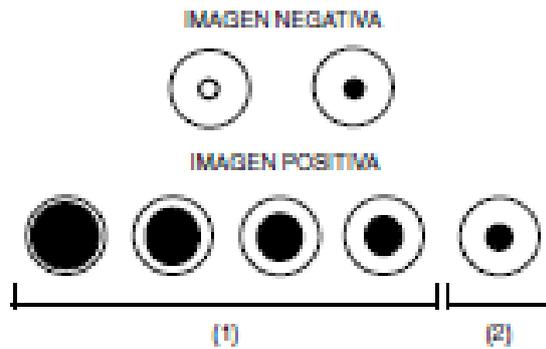


Figura 24 Ilustração representativa da interpretação de resultados na HAI. (Fonte: Wiener Lab, 2000)

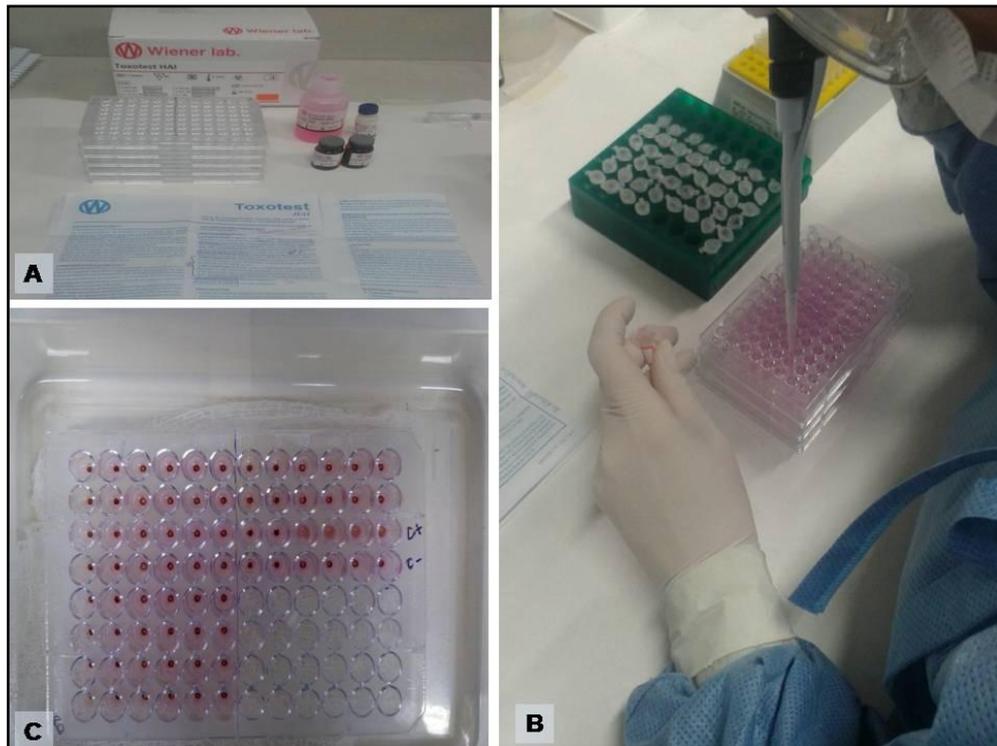


Figura 25 Técnica de Hemaglutinação indireta realizada no LabTOXO. **A.** Kit Toxotest da Wiener Lab. **B.** Diluição das amostras. **C.** Controle positivo e negativo. (Fonte: Originais da Autora)

3.11.2 Reação de imunofluorescência indireta

A metodologia utilizada para esta técnica foi implantada e é empregada rotineiramente no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses. Esta reação fundamenta-se na formação de complexos antígenos–anticorpos revelados pela emissão de fluorescência do conjugado anti-Imunoglobulina de gato marcada com Isotiocianato de fluoresceína quando excitado por luz ultravioleta.

- Preparo de antígenos para RIFI

O preparo de antígenos foi realizado colocando-se o lavado intraperitoneal de camundongos infectados com *T. gondii* em tubo cônico, onde foi adicionado formol a 2%, com o volume na proporção 2:1 (formol: lavado intraperitoneal). Este material foi centrifugado a 46 g por 5 minutos, para a precipitação das células, tais como macrófagos que são mais pesadas que os taquizoítos, restando ao final, apenas estas formas evolutivas no sobrenadante. Para sedimentação e concentração dos taquizoítos o sobrenadante foi novamente centrifugado a 1640 g por 10 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspensionado em solução salina tamponada (PBS) estéril. Realizou-se, mais duas lavagens com PBS a 1640 g por 10 minutos. Após a última centrifugação, o sedimento foi ressuspensionado em uma pequena quantidade de PBS estéril e feita a contagem em câmara de *Newbauer*, onde a concentração de parasitos foi ajustada para a obtenção de cerca de 1×10^7 parasitos por mL. As lâminas de microscopia foram sensibilizadas colocando-se 10 μ L de antígeno (1×10^7 por mL) em cada retículo da lâmina.

- Preparo das lâminas

As lâminas de imunofluorescência foram sensibilizadas colocando em cada retículo da lâmina, 10 μ L de suspensão de taquizoítos em PBS (1×10^7 taquizoítos/mL), inativados com formalina à 2%. Foram deixadas em estufa à 37°C até secar, promovendo assim, a adesão dos taquizoítos na lâmina. Foi realizada então a marcação dos retículos para controles (+) e (-) e para amostras de soros.

- Diluição do conjugado

A diluição do conjugado foi feita com o uso de PBS com azul de Evans um mg %. O azul de Evans foi diluído em PBS e teve a função de gerar um maior contraste entre a lâmina e a fluoresceína, facilitando a observação da fluorescência. Os conjugados foram diluídos no azul de Evans aproximadamente 10 minutos antes do fim da primeira incubação.

- Realização da técnica

Foi utilizada uma placa de microdiluição com 96 poços, tendo o fundo em “U” com as marcações dos controles positivos e negativos, bem como das diluições das amostras dos soros dos pacientes. Uma vez efetuadas as marcações, foi confeccionado um mapa de trabalho da placa identificando-se assim os controles e os soros dos animais da pesquisa. As diluições foram produzidas a partir de uma diluição 1:16 dos soros. A primeira etapa foi à distribuição do solvente (PBS) pela placa, da seguinte forma:

- 150 μ L de PBS em todos os poços;
- 10 μ L dos soros em seus respectivos poços da coluna S, de forma a ficar em cada poço uma diluição 1:16 em PBS (Figura 27 A);
- Com a pipeta multicanal foi homogeneizado as diluições da coluna S;
- Pipetou-se 50 μ L de cada um dos poços passando para os próximos poços da coluna D1, obtendo-se assim uma diluição de 1:64 em toda a coluna;
- O processo anterior foi repetido, tendo-se como ponto de partida a coluna D1, obtendo na coluna D2 uma diluição de 1: 256, e assim por diante até a coluna D4 com uma diluição de 1: 4096;
- Feitas as diluições, foi acrescentado então, 10 μ L de cada diluição em seu respectivo quadrante na lâmina, previamente sensibilizada para reação de imunofluorescência.

Obs.: Foi sempre utilizada uma ponteira por soro, dessa forma as diluições seguiram-se da maior para a menor diluição conforme representado abaixo:

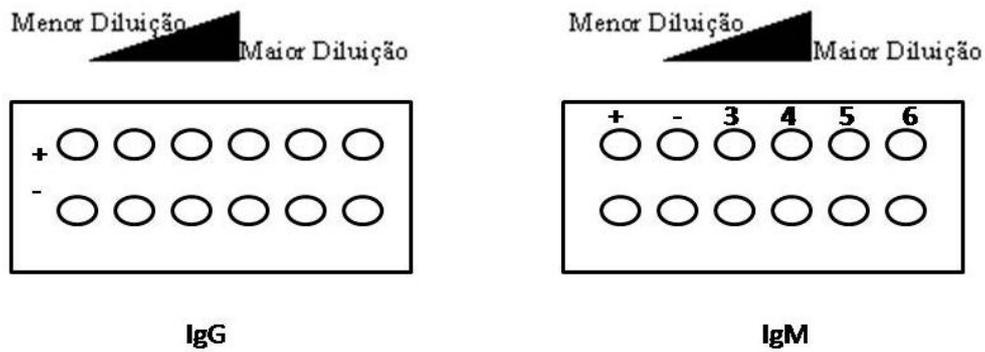


Figura 26 Representação gráfica das lâminas de microscopia de imunofluorescência com as respectivas diluições. (Fonte: LabTOXO, 2011).

Para pesquisa de IgM nas lâminas de microscopia, foram utilizadas somente duas diluições (1:16) e (1:64), sendo então, testados soros de seis animais por lâmina, já em relação a IgG foram realizados exames de dois animais por lâmina, tendo como base sempre as seguintes diluições 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096 (Figura 27 B).

Depois de adicionadas as diluições a seus respectivos quadrantes, prosseguiu-se a incubação das lâminas em câmara úmida na estufa a 37°C por 1 h (Figura 27 C). Decorrido esse período foram feitas duas lavagens de 5 minutos cada, em PBS (Figura 27 D). Após a secagem das lâminas foram aplicados os conjugados, 10 µL por quadrante, e tornou-se novamente a incubá-las em câmara úmida na estufa por mais 1 h a 37°C (Figura 27 E).

Após esta etapa prosseguiu-se com outras duas lavagens de 5 minutos cada em PBS. As lâminas foram secas e adicionadas glicerina para sobreposição de uma lamínula (Figura 27 F), sendo então, encaminhadas para leitura em microscópio Y-FL de epi-fluorescência (Nikon E400), com lâmpada de mercúrio, filtro ND16, com objetiva de 40 vezes e ocular de 10 vezes. Foi considerada reação positiva as diluições do soro \geq 1:64 em que havia fluorescência completa na membrana do parasito, em pelo menos 50% dos taquizoítos e as diluições menores que 1:64 foram consideradas negativas ou não reagentes (NR).

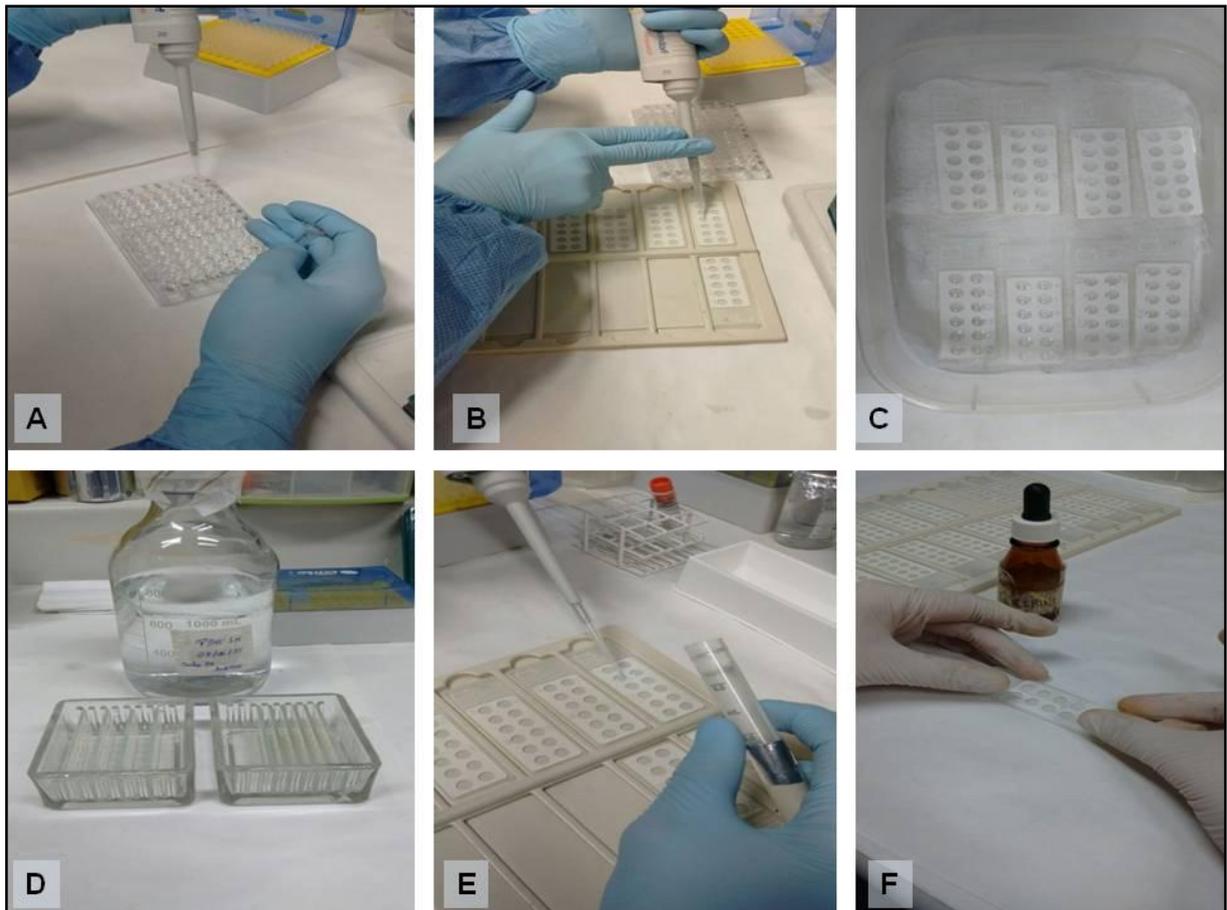


Figura 27 Ilustração da Técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta. **A.** Diluição das amostras. **B.** Transferência das amostras diluídas para as lâminas sensibilizadas. **C.** Lâminas em câmara úmida. **D.** Aplicação do conjugado preparado. **E.** Aplicação da glicerina. **F.** Montagem das lâminas com lamínula. (Fonte: Originais da Autora).

3.12 Pesquisa de oocistos com morfologia similar aos de *Toxoplasma gondii* nas amostras fecais dos gatos

No Laboratório de Parasitologia da UFF, as amostras fecais foram homogeneizadas com água destilada, sendo então filtradas em tamis com gaze, dobrada quatro vezes (Figura 28 A). O filtrado foi aliquotado em dois tubos cônicos de polipropileno, com volume de 15 mL cada um (Figura 28 B), para a realização das seguintes técnicas coproparasitológicas qualitativas:

- Centrífugo-sedimentação em tubo cônico adaptado de Ribeiro e Furst (2012);
- Centrífugo flutuação com solução de sacarose de Sheather (1923) modificada por Huber *et al.* (2003);

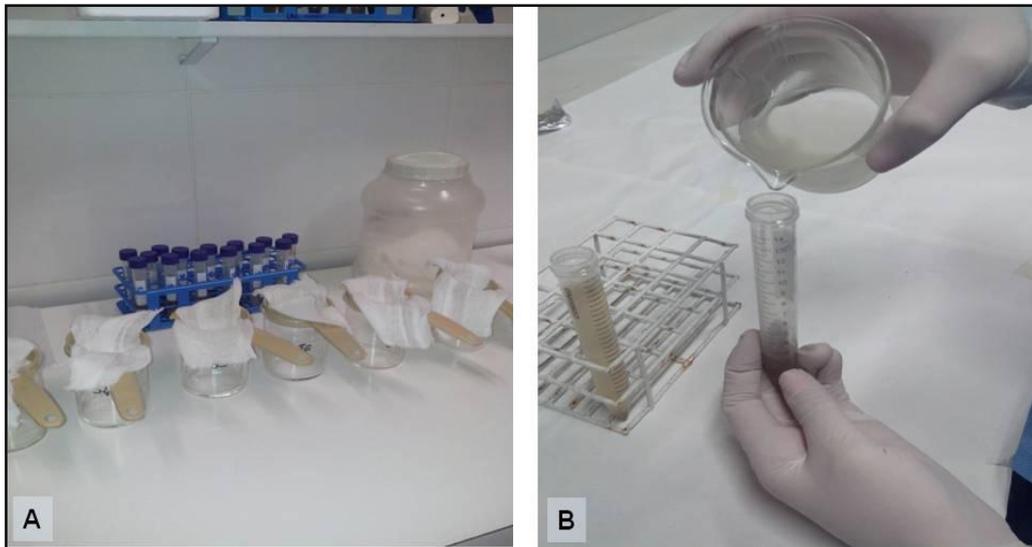


Figura 28 Pré-preparo das amostras antes da realização das técnicas. **A.** Bancada do laboratório sendo preparada para etapa de filtração. **B.** Aliquotagem do filtrado fecal em tubos de fundo cônico. (Fonte: Originais da Autora)

3.12.1 Técnica de centrifugo-sedimentação em tubo cônico adaptado de Ribeiro e Furst (2012)

Essa técnica fundamenta-se na sedimentação por centrifugação de formas evolutivas dos parasitos em tubos cônicos de centrífuga como indica Ribeiro e Furts (2012). Parte do material obtido após homogeneização em água e filtração foi depositado em um tubo cônico de polipropileno com capacidade de 15 mL. Em seguida, foi centrifugado a 458 g por 5 minutos. Após essa etapa, descartou-se o sobrenadante e com uma pipeta descartável do tipo Pasteur primo utilizada, coletou-se uma alíquota do sedimento e transferiu-se uma gota do mesmo para uma lâmina de microscopia. Essa foi coberta com lamínula (24 x 32 mm) que, então, foi encaminhada para leitura.

3.12.2 Técnica de Sheather (1923) modificada por Huber et al. (2003)

Essa técnica apresenta como fundamento a centrífugo-flutuação com solução de sacarose com densidade de 1,30 g/mL. No laboratório transferiu-se 15 mL do filtrado da amostra para tubos plásticos de centrífuga de fundo cônico, sendo submetido à centrifugação por 10 minutos a 458 g. O sobrenadante foi descartado e o sedimento foi suspenso em solução saturada de sacarose até o volume de 15 mL, sendo submetido à centrifugação por 5 minutos a 458 g. Após esse procedimento, os tubos foram dispostos em estantes e adicionou-se solução de sacarose até a formação de um menisco positivo, sobre o qual foi colocada lamínula (22 x 22 mm) e que foi deixada em repouso por 4 minutos. Em seguida, as lamínulas foram retiradas, cuidadosamente, e depositadas sobre lâminas de microscopia, procedendo à leitura do material.

3.12.3 Leitura das amostras processadas

A leitura das lâminas obtidas de cada técnica e a fotomicrografia foram realizadas no microscópio óptico binocular Olympus® BX 41, inicialmente, em aumento de 100 vezes e, para confirmação, se necessário, em 400 vezes, acoplado a câmera digital Samsung® SDC415 com software de captura Honestech® PVR. Para morfometria das formas evolutivas de parasitos foi utilizado o microscópio óptico unioocular Olympus® CH30 em 400 vezes com uma ocular micrométrica Olympus® SWH.

3.13 Análise e processamento estatístico dos resultados

No presente estudo foi considerado como reagente o animal que apresentou resultado positivo em uma ou ambas as técnicas sorológicas utilizadas, independente se na análise da amostra do primeiro ou segundo período de coleta. Com relação à técnica de RIFI o animal foi considerado reagente quando positivo para uma ou ambas imunoglobulinas IgG e IgM.

A variável idade foi dividida em dois grupos: gatos jovens quando apresentava idade menor ou igual a um ano e adultos quando acima de um ano.

Definiu-se como soroconversão a ocorrência de três tipos de mudança de *status* sorológico entre os dois períodos distintos de coleta, com, pelo menos duas diluições de diferença. Os gatos que foram IgG negativo na primeira análise e IgG positivo na segunda; animais IgG positivo na primeira e IgG negativo na segunda; IgM negativo na primeira e IgM positivo na segunda. O gato que apresentou o resultado de IgM positivo na primeira amostra e negativo na segunda, não foi considerado como soroconversão e sim como evolução natural do perfil sorológico para este tipo de imunoglobulina, que tende a negativar com, aproximadamente, 3 semanas, não sendo enquadrado nesta classificação.

Todas as análises foram realizadas no programa *GraphPad Prism Versão 5*, sendo utilizado o intervalo de confiança de 5% com 95% de precisão. Foi utilizado o teste estatístico exato de Fischer para verificar a existência de associação da frequência de anticorpos anti-*T. gondii* entre as populações de gatos cativos e errantes; da frequência sorológica geral das populações e sexo; da frequência sorológica geral das populações e idade; e para analisar a frequência de soroconversão de anticorpos anti-*T. gondii* pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) nas duas populações de gatos. Para a avaliação da frequência das formas evolutivas de parasitos gastrintestinais diagnosticadas nas populações de gatos cativos e errantes foi adotado o teste de qui-quadrado.

A medida Kappa (k) também foi realizada para avaliar o grau de concordância entre as técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) nas amostras de soro dos felinos estudados. Os resultados do Kappa foram interpretados segundo a classificação de Landis e Kock (1977). Kappa com concordância perfeita = 1,00; ótima = 0,81 a 0,99; boa = 0,61 a 0,80; regular = 0,41 a 0,60; razoável = 0,21 a 0,40; fraca = 0,20 - 0,00; nenhuma <0,00 (Adaptado de Landis e Kock, 1977).

4 RESULTADOS

No primeiro período do estudo foram coletadas amostras de sangue de 433 gatos, sendo, 261 cativos da Fazenda Modelo e 172 errantes do conjunto de condomínios Península, deste último grupo, também foram coletadas amostras fecais. Depois de no mínimo quatro meses e no máximo oito meses foram recuperados dos gatos cativos 94 (36,01%) e dos errantes, 56 (32,5%), para obtenção de novas amostras de sangue e fezes.

Ao avaliar todos os animais das duas populações estudadas, associando os resultados obtidos das duas coletas do mesmo animal, realizadas em períodos distintos, pôde-se evidenciar a frequência geral de 21,9% de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. No entanto, ao associar os resultados obtidos dos dois períodos distintos e analisar isoladamente cada população estudada, a positividade foi de 24,5% nos animais cativos e 18,0% nos errantes, não tendo diferença estatística significativa ($p = 0,1234$) (Tabela 1).

Tabela 1 Resultados sorológicos das técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos cativos e errantes do Rio de Janeiro. Unificando os resultados das duas análises do mesmo animal, em dois períodos distintos ocorridos no período de agosto de 2014 a outubro de 2015.

	Gatos cativos (1ª e 2ª análise)			Gatos errantes (1ª e 2ª análise)			Total
	HAI	RIFI	Subtotal (HAI e/ou RIFI)	HAI	RIFI	Subtotal (HAI e/ou RIFI)	
Reagente	41 (15,7%)	49 (18,8%)	64 (24,5%)	12 (7,0%)	22 (12,8%)	31 (18,0%)	95 (21,9%)
Não reagente	220 (84,3%)	212 (81,2%)	197 (75,5%)	160 (93,0%)	150 (87,2%)	141 (82,0%)	338(78,1%)
Total	261	261	261	172	172	172	433

Valor de $p = 0,1234$

Associando os resultados das duas populações de felinos estudadas independente do período de coleta, a soropositividade observada em ambas às técnicas, hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI), foi de 6,7% e a soronegatividade 78,5%. A Medida Kappa, ou seja, o grau de concordância entre essas técnicas foi classificado como razoável (K = 0,40) (Tabela 2).

Tabela 2 Comparação dos resultados obtidos nas técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em duas populações de gatos domésticos do Rio de Janeiro. No período de agosto de 2014 a outubro de 2015, no gatil Fazenda Modelo e no conjunto de condomínios Península.

Gatos cativos e Gatos errantes (1ª e 2ª coleta)			
RIFI IgG	HAI		TOTAL
	Reagente	Não reagente	
Reagente	29 (6,7%)=a	40 (9,2%)=b	69 (16%)
Não reagente	24 (5,5%)=c	340 (78,5%)=d	364(84%)
TOTAL	53 (12,2%)	380 (87,8%)	433 (100%)

Copositividade (RIFI/HAI)	$a/(a+c) \times 100$	42,0%
Conegatividade (RIFI/HAI)	$d/(b+d) \times 100$	93,4%
Copositividade (HAI/RIFI)	$a/(a+b) \times 100$	54,7%
Conegatividade (HAI/RIFI)	$d/(c+d) \times 100$	89,5%
Concordância bruta	$(a+d)/(a+b+c+d) \times 100$	85,2%
Concordância observada (Co)	$(a+d)/(a+b+c+d)$	0,852
Concordância esperada (Ce)	$[(a+b)(a+c)] + [(c+d)(b+d)] / (a+b+c+d)^2$	0,757
Kappa	$(Co - Ce) / (1 - Ce)$	0,4

Kappa: 0,40 - Razoável

Classificação de Landis e Kock (1977): 1 - perfeita; 0,81 - 0,99 - ótima; 0,61 - 0,80 - boa; 0,41 - 0,60 - regular; 0,21 - 0,40 - razoável; 0,00 - 0,20 - fraca; <0,00 - nenhuma.

Relacionando a frequência dos gatos domésticos soropositivos para anticorpos anti-*T. gondii* com o sexo, não verificou-se diferença estatística significativa em ambas populações estudadas. Sendo reagentes na população cativa 26,9% das fêmeas e 20,8% dos machos, na população errante 13,6% das fêmeas e 24,6% dos machos (Tabela 3).

Tabela 3 Associação entre os resultados obtidos pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou hemaglutinação indireta (HAI) para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e o sexo em duas populações de gatos domésticos do Rio de Janeiro.

	Gatos cativos			Gatos errantes		
	FÊMEAS	MACHOS	TOTAL	FÊMEAS	MACHOS	TOTAL
Reagente	43 (26,9%)	21 (20,8%)	64 (24,5%)	14 (13,6%)	17 (24,6%)	31 (18%)
Não reagente	117 (73,1%)	80 (79,2%)	197 (75,5%)	89 (86,4%)	52 (75,4%)	141 (82%)
Total	160	101	261	103	69	172
	Valor de p = 0,3027			Valor de p = 0,0717		

Correlacionando a positividade com a variável de idade nas populações de gatos cativos e errantes não foram encontrado diferença estatística significativa. Sendo encontrados 3 filhotes positivos na população de gatos errantes determinando 1,7% da população total (3/172) e nenhum positivo na população de cativos.

Tabela 4 Associação entre os resultados obtidos pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou hemaglutinação indireta (HAI) para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e a idade em duas populações de gatos domésticos do Rio de Janeiro.

	Gatos cativos			Gatos errantes		
	ADULTOS	FILHOTES	TOTAL	ADULTOS	FILHOTES	TOTAL
Reagente	64 (25,1%)	0 (0%)	64 (24,5%)	28(20,1%)	3(9,1%)	31 (18%)
Não reagente	191(74,9%)	6 (100%)	197 (75,5%)	111(79,9%)	30 (90,9%)	141 (82%)
Total	255	6	261	139	33	172
	Valor de p = 0,341			Valor de p = 0,2065		

Foi possível acompanhar sorologicamente anticorpos anti-*T. gondii* em 94 gatos cativos da Fazenda Modelo. Destes, os títulos de anticorpos no primeiro e no segundo período de análise variaram entre animais negativos, classificados como não reagente (NR), animais positivos com diluição 1:64 até 1:1024. Gatos não reagente aos anticorpos na primeira coleta e que permaneceram nesta condição foram 80,7%. Já os gatos que não apresentaram títulos na primeira análise e apresentaram soropositividade na segunda foram 15,7% (1:64); 3,6% (1:256). Dos 94 animais sorologicamente acompanhados, 9 (9,6%) apresentaram positividade na primeira análise e mantiveram este *status* sorológico na segunda. Somente dois animais foram positivos na primeira coleta, com titulação 1:64 e modificaram seu perfil para negativos (Tabela 5).

Tabela 5 Frequência de títulos de anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* detectados na reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em dois momentos distintos de coletas de sangue em população de gatos domésticos cativos do Rio de Janeiro.

TÍTULOS RIFI IgG 1ª COLETA	TÍTULOS DE RIFI IgG 2ª COLETA CATIVOS									
	NR		1:64		1:256		1:1024		TOTAL	
	Nª	%	Nª	%	Nª	%	Nª	%	Nª	%
NR	67	80,7	13	15,7	3	3,6	0	0,0	83	100,0
1:64	2	33,3	0	0,0	4	66,7	0	0,0	6	100,0
1:256	0	0,0	1	20,0	3	60,0	1	20,0	5	100,0
1:1024	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TOTAL	69	73,4	14	14,9	10	10,6	1	1,1	94	100,0

NR: Não reagente à diluição de 1:64.

Na população de gatos errantes foi possível reavaliar 56 animais habitantes do Península. Nestes, os títulos de anticorpos no primeiro e no segundo período de análise também variaram entre animais negativos, classificados como não reagente (NR), animais positivos com diluição 1:64 até 1:1024. Todos os gatos não reagente aos anticorpos na primeira coleta permaneceram nesta condição na segunda coleta. Dos 56 animais acompanhados, três (5,4%) apresentaram positividade na primeira análise e mantiveram este *status* sorológico na segunda análise. Amostras positivas na primeira tomada, com perfil de 1:64, sendo posteriormente negativos na segunda tomada foi 77,8% (7/9) (Tabela 6).

Tabela 6 Frequência de títulos de anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* detectados na reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em dois momentos distintos de coletas de sangue em população de gatos domésticos errantes do Rio de Janeiro.

TITULOS RIFI IgG 1ª COLETA	TITULOS DE RIFI IgG 2ª COLETA CATIVOS									
	NR		1:64		1:256		1:1024		TOTAL	
	Nª	%	Nª	%	Nª	%	Nª	%	Nª	%
NR	46	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	46	100,0
1:64	7	77,8	2	22,2	0	0,0	0	0,0	9	100,0
1:256	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	100,0
1:1024	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TOTAL	53	94,6	2	3,6	1	1,8	0	0,0	56	100,0

NR: Não reagente à diluição de 1:64.

De todos os gatos acompanhados foi possível observar que 27 (18%) mudaram o seu perfil sorológico para *T. gondii*, sendo, portanto, incluídos no grupo de animais que realizaram soroconversão. Destes 74,1% foram gatos cativos e 25,9% gatos errantes, não sendo possível evidenciar diferença estatística significativa entre os dois grupos avaliados ($p=0,1954$) (Tabela 7).

Tabela 7 Comparação da frequência de soroconversão para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou hemaglutinação indireta (HAI) entre populações de gatos domésticos cativos e errantes no município do Rio de Janeiro.

Soroconversão	Gatos cativos	Gatos errantes	Total
Sim	20 (74,1%)	7 (25,9%)	27 (18%)
Não	74 (60,2%)	49 (39,8%)	123 (82%)
Total	94	56	150

Teste Exato de Fisher: $p = 0,1954$.

Dentro do grupo que apresentou soroconversão foram observados três tipos de perfis sorológicos distintos: primeira coleta IgG- e segunda coleta IgG+ que foi verificado apenas nos gatos cativos com 80%; o segundo tipo foram os animais que apresentaram IgG+ na primeira análise e IgG- na segunda sendo todos os felinos errantes que apresentam soroconversão e 10% dos cativos; por último, animais que foram IgM- na análise inicial e IgM+ na segunda, sendo observado tal status em 10%

dos gatos cativos Todos os animais que apresentaram mudança do status sorológico na segunda análise pela técnica HAI também modificaram seus status na técnica RIFI. (Tabela 8).

Tabela 8 Frequência de soroconversão para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em grupos de gatos domésticos cativos e errantes no município do Rio de Janeiro.

Soroconversão		Gatos cativos (N= 94)	Gatos errantes (N = 56)
1ª Coleta	2ª Coleta		
IgG -	IgG +	16 (80%)	0
IgG+	IgG-	2(10%)	7(100%)
IgM -	IgM +	2(10%)	0
Total		20	7

Dentre as amostras de fezes coletadas de todos os felinos domésticos estudados não foi diagnosticado formas evolutivas com morfologia compatíveis com oocistos de *T. gondii*. Outras estruturas parasitárias foram detectadas e estão descritas na Tabela 8. Ao avaliar a positividade para parasitoses gastrintestinais foi possível observar diferença estatística significativa ($p=0,0043$) entre as duas populações de gatos estudadas, onde os errantes apresentaram maior frequência 77,3%, enquanto os cativos mostraram uma positividade de 49% (Tabela 9).

Tabela 9 Parasitos gastrintestinais diagnosticados populações de gatos domésticos cativos e errantes no município do Rio de Janeiro.

Parasitos	Cativos (N=91)	Errantes (N= 172)
Ancilostomídeos	42 (46,1%)	117 (68,0%)
<i>Toxocara cati</i>	1 (1,1%)	3 (1,7%)
<i>Dipylidium caninum</i>	3 (3,2%)	3 (1,7%)
<i>Cystoisospora rivolta</i>	0	33 (19,2%)
<i>Cystoisospora felis</i>	2 (2,2%)	23 (13,4%)
Total	45 (49%)	133 (77,3%)

Teste χ^2 : $p = 0,0043$.

5 DISCUSSÃO

A evidência de anticorpos anti-*T. gondii* foi avaliada em amostras populacionais distintas de gatos. Estas corresponderam a animais sem raça definida, de ambos os sexos e que não apresentavam posse responsável, sendo, caracterizados como animais cativos em gatil municipal e errantes em um conjunto de condomínios. Nestes animais a positividade para *T. gondii* foi verificada em dois períodos, avaliando com isso o potencial de transmissão dos ambientes estudados. Os animais foram submetidos à detecção do parasito de forma indireta verificando a presença de anticorpos no soro, e de forma direta, pelo diagnóstico de oocistos com morfologia similar a *T. gondii* em suas fezes.

No presente estudo pôde-se observar que o tamanho da amostra populacional dos gatos variou nos dois períodos estudados, sendo no primeiro momento, capturados 261 gatos cativos e 172 em vida livre. Entretanto a avaliação do potencial de transmissão do *Toxoplasma gondii* foi realizada em 36,01% dos gatos cativos e em 32,5% dos errantes. Tal fato ocorreu, pois no segundo período de captura não foi possível encontrar alguns animais. A falta destes no gatil da Fazenda Modelo pode ter ocorrido devido a fugas, óbitos ou adoções. Nos animais errantes do conjunto de condomínios do Península a variação populacional observada na primeira e na segunda captura pode ser explicada pelo óbito, adoções, capacidade de reconhecer os tratadores e as armadilhas, associado ao comportamento feral dos animais, que em muitos momentos dificultou uma nova captura; e ainda o fato dos gatos errantes apresentarem ampla circulação, podendo não estar no Península no período da segunda coleta.

De forma geral a soroprevalência para anticorpos anti-*T. gondii* evidenciada no total de animais do presente estudo foi de 21,9%. Dentre os artigos encontrados, somente Wang *et al.* (2012), na China, avaliaram a positividade para *T. gondii* tanto, em felinos cativos de gatil quanto em errantes, sendo relatada frequência geral menor do que a desse estudo, 11,7%. Tais autores não analisaram a frequência dos grupos de animais de forma isolada, o que prejudicou comparações com esta literatura.

Os gatos cativos do gatil municipal apresentaram uma frequência maior quando comparada com os gatos errantes do conjunto de condomínios. A variação da frequência de anticorpos anti - *T. gondii* observada entre os diferentes estudos, nos gatos cativos e errantes pode estar diretamente relacionada ao modo de vida do animal associado às condições bióticas, abióticas e sócioeconômicas específicas de cada local.

Nos animais cativos da Fazenda Modelo a frequência foi de 24,5%. Resultados similares a este foram evidenciados em gatos de Centros de Controle de Zoonoses (CCZ) no Rio de Janeiro por Netto *et al.* (2003) e em São Paulo por Brescianni *et al.* (2007), 24,4% e 25%, respectivamente. Também analisando felinos de CCZ em São Paulo, Pena *et al.* (2006) observaram 35% de animais reagente para anticorpos anti- *T. gondii*, enquanto Dubey *et al.* (2006) verificaram 45,2%, na Colômbia, ambos superiores a frequência observada. E Temoche (2012) evidenciou uma frequência inferior à deste estudo, em gatos da região metropolitana do Rio de Janeiro, sendo 10,3%. A densidade de animais em seus ambientes pode ser um dos fatores que influenciam nesses resultados, no qual verificou-se que a densidade populacional é maior nos gatos cativos, 0,07 animais/m², do que nos errantes, 0,0002 animais/m². Gauss *et al.* (2003) e Castillo-Morales *et al.* (2012) mostraram em seus estudos que animais que vivem ambientes que há mais de um gato se tornam mais propensos a infecção por *T. gondii*. Essa maior concentração de animais nos recintos do gatil pode ter favorecido o contato desses diretamente com as fezes e também com o solo desnudo, possivelmente contaminados com os oocistos, que quando esporulados infectam outros animais que estão ao redor.

Já nos gatos errantes do Península, a soropositividade para *T. gondii* foi de 18%. Esse percentual também foi encontrado por Afonso *et al.* (2006), na França, ao detectarem anticorpos para o protozoário em gatos em vida livre de um Parque em Lyon. Frequências maiores à deste estudo foram vistas por Switzer *et al.* (2013) em gatos errantes em base militares no Iraque, 30,4% e em felinos de centros urbanos no Irã 44,2% por Akhtardanesh *et al.* (2010). No Brasil frequências elevadas em populações de gatos errantes foram evidenciadas por Costa *et al.* (2012) em Fernando de Noronha, 66,6%; e Mendes-de-Almeida *et al.* (2007) , no Rio de Janeiro, que obtiveram uma frequência que variou de 60,6% a 92,1% nos anos de

estudo. De acordo com a literatura, normalmente, a frequência é maior em gatos errantes do que gatos domiciliados ou cativos (Gauss et al., 2003; Miró et al., 2004). Isso é comumente relacionado ao hábito de caça a potenciais hospedeiros intermediários, como roedores (Dabritz et al., 2008; Elmore et al., 2010). No entanto, a população de gatos errantes do conjunto de condomínios apresentou uma baixa frequência quando comparada a literatura utilizada. Tal fato pode ter ocorrido devido a diversos fatores que limitaram a predação por esses animais, onde o principal deles pode ser o fornecimento diário de alimento industrializado, diminuindo assim, o hábito de caça nessa população. O fornecimento de alimentos para esses animais tem como ponto positivo a limitação da predação, contudo, existe o ponto negativo que é o crescimento da população, principalmente onde não há controle populacional com a castração (Afonso et al., 2006).

Foram utilizadas nas análises as técnicas sorológicas de hemaglutinação indireta (HAI) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). A RIFI apresentou melhor eficiência no diagnóstico indireto para *T. gondii*, porém a concordância do seu resultado com o HAI foi classificada como razoável. Este resultado discorda de Barros et al. (2015) que relataram concordância perfeita entre as duas técnicas ao pesquisar anticorpos para o protozoário em gatos domiciliados na região metropolitana do Rio de Janeiro. Pinto et al. (2009) relataram baixa concordância entre HAI e RIFI na detecção de anticorpos anti *T. gondii* em gatos domiciliados em Porto Alegre, assim como nos gatos cativos e errantes estudados. Apesar de ter sido evidenciado uma concordância razoável, este valor ainda se encontra longe da concordância ideal, que seria a perfeita, 100%. Isso demonstra a necessidade da associação de técnicas sorológicas com diferentes fundamentos, pois ainda hoje não há, para felinos, uma técnica laboratorial padrão ouro para o diagnóstico de *T. gondii*. Essa falta de padronização na detecção de imunoglobulinas específicas anti-*T. gondii* em gatos acaba propiciando a utilização de diferentes técnicas laboratoriais pelos pesquisadores e isso, acarreta dificuldades nas comparações de resultados epidemiológicos.

Não foi observada nenhuma diferença entre a frequência da infecção por *T. gondii* e o sexo nas duas populações analisadas, corroborando aos resultados achados por Gauss et al., (2003); Pena et al., (2006); Bresciani et al., (2007); Coelho et al., (2011) e Cerro et al., (2014) e Barros et al., (2015). Alguns autores ressaltam

que gatos machos podem apresentar um maior risco de infecção por *T. gondii* por explorarem territorialmente mais o ambiente do que as fêmeas (Smith *et al.*, 1992; Miró *et al.*, 2004). Por outro lado, Netto *et al.* (2003) aponta uma maior possibilidade de infecção nas fêmeas e nos filhotes, devido ao comportamento delas em caçar e estimular este hábito a sua cria. Portanto, neste estudo, os resultados obtidos sugerem que ambos os gêneros são igualmente suscetíveis a infecção por *T. gondii*.

Ao correlacionar os resultados das análises sorológicas com a variável de idade não foi evidenciado diferença estatística significativa, sendo similar aos resultados obtidos por Netto *et al.* (2003); Cerro *et al.*, (2014) e Barros *et al.*, (2015). Autores como Gauss *et al.*, (2003); Pena *et al.*, (2006); Bresciani *et al.*, (2007) e Wang *et al.*, (2012) observaram uma maior prevalência em animais adultos do que em animais jovens, o que foi explicado pela hipótese dos adultos terem tido mais exposição ao protozoário *T. gondii* durante a vida. Estes resultados não estão em concordância com os encontrados no presente estudo, onde a idade não foi um fator que influenciou na frequência da infecção.

Durante o estudo foi possível observar que 18% dos animais mudaram o seu perfil sorológico. Apesar de viverem em ambientes muito distintos, os grupos de felinos cativos e errantes não apresentaram diferenças estatísticas significativas na soroconversão, mostrando que ambos estão em ambientes que favorecem de alguma forma a infecção pelo protozoário. Na França, Afonso *et al.* (2006) ao acompanharem sorologicamente gatos errantes, evidenciaram uma menor taxa de soroconversão, 9,1%. No entanto, a definição de soroconversão por esses autores foi considerada quando gatos filhotes (< 6 meses) apresentavam títulos superiores ao ponto de corte (1:40) ou quando gatos adultos (> 6 meses) após o intervalo de seis meses (segunda coleta) obtinham titulação 1:40 ou mais. Cabe ressaltar que as amostras dos gatos avaliados do Rio de Janeiro foram submetidas à técnica de RIFI com um ponto corte ainda mais confiável 1:64, do que o realizado pelos pesquisadores na França. Além disso, a RIFI permitiu distinguir a classe de imunoglobulinas e, com isso, estimar a fase da infecção, fato que não pode ser considerado nos animais da França, pois estes foram avaliados somente pela técnica de MAT.

A maioria dos gatos cativos que soroconverteram apresentaram o perfil IgG - na primeira análise laboratorial e na segunda, IgG+. A positividade com titulação

1:64 foi a mais evidenciada, seguida por 1:256. Rosa *et al.* (2010) também relataram uma maior frequência destas titulações ao estudarem a soroprevalência de *T. gondii* em gatos domiciliados em Santa Catarina. Já Bresciani *et al.* (2007) obtiveram titulações elevadas (1:2048) em 7,5% de gatos cativos de CCZ em São Paulo ao realizar um estudo pontual. Também nos animais cativos foi observada uma baixa frequência na soroconversão com o perfil IgM positivo. Estes títulos de anticorpos indicam que o animal provavelmente entrou em contato com formas evolutivas do parasito no gatil, e que o protozoário já realizou a multiplicação em nível intestinal. Dubey (1995) relata que a produção de anticorpos para *T. gondii* em gatos ocorrem depois da máxima eliminação de oocisto, que geralmente acontece três semanas após a infecção, quando os sinais e sintomas da toxoplasmose não são mais tão evidentes. Essa infecção no ambiente do gatil municipal estudado pode ter ocorrido por diversos fatores dentre eles, destacam - se: a contaminação ambiental com fezes contendo oocistos; a concentração de animais que favorece o contato direto entre eles e com suas excretas e ingestão de água em vasilhames rasos disposto no chão em contato com o solo tendem a ser mais propícia a contaminação. Além disso, não pode ser descartada a possibilidade da ingestão de cisto com bradizoítas em hospedeiros intermediários que podem entrar nos recintos, como roedores, marsupiais e aves, pois o gatil municipal estudado fica localizado em ambiente de Mata Atlântica.

Todos os sete animais errantes que mostraram soroconversão, possuíam títulos de IgG 1:64 na primeira análise e modificaram seu perfil sorológico para não reagente na segunda. Esta modificação no status de anticorpos anti-*T. gondii* também foi observada em três felinos, por Mendes-de-Almeida *et al.* (2007) ao estudarem um grupo de gatos errantes (33 a 47) anualmente, no período de 2002 a 2004, no Rio de Janeiro. Esta categoria de soroconversão pode ser justificada por duas razões: a presença de anticorpos em níveis basais no segundo momento de análise que não foram detectados nas diluições utilizadas ou a titulação de anticorpos abaixo do ponto de corte. Dos sete gatos que soroconverteram para negativo, três apresentaram positividade na titulação 1:16 na segunda análise, que no presente estudo foi considerado não reagente. Vale ressaltar, que para felinos ainda não há pontos de corte nas técnicas sorológicas utilizadas no diagnóstico de

T. gondii (Dubey *et al.*, 2006). Por isso, para garantir a confiabilidade dos resultados na RIFI, neste estudo foi utilizado o ponto de corte maior ou igual que 1:64.

Apesar dos resultados positivos na população de gatos errantes estarem presentes em menor proporção do que os cativos foram visto uma frequência significativa. O que sugere que o ambiente natural amplo do Península, composto por uma vegetação com restinga e manguezais, é favorável na manutenção do ciclo biológico do protozoário, pois os gatos por estarem em vida livre, mesmo que recebam ração e água potável diariamente, podem desempenhar seu instinto de caça, o que possibilita a infecção pela ingestão de hospedeiros intermediários infectados com cistos.

Ao realizar o diagnóstico coproparasitológico não foi possível detectar oocistos com morfologia compatível com *T. gondii* nas amostras de fezes. Esses resultados concordam com Dubey *et al.* (2006) que pesquisaram oocistos em fezes de 170 gatos de CCZ na Colômbia, e também com Cerro *et al.* (2014) e com Bastos *et al.* (2014) que avaliaram material fecal de 50 e 54 gatos domésticos, respectivamente, no Brasil. Já Pena *et al.* (2006) detectaram somente 1,3% de oocistos de *T. gondii* em 237 amostras de fezes de gatos de CCZ em São Paulo. Schares *et al.* (2008) relataram baixa frequência, 0,31% destas formas evolutivas ao analisarem 24106 amostras de fezes de gatos em vários países da Europa. A maioria dos autores demonstra resultados com números muito baixos ou negativos na pesquisa de oocistos, pois os gatos infectados liberam os oocistos por um único período, que compreende uma a duas semanas de vida (Elmore *et al.* 2010). Segundo Dubey e Beattie (1988), gatos desenvolvem anticorpos anti-*T. gondii* três semanas após ter se infectado, ou seja, gatos sorologicamente positivos, provavelmente já eliminaram os oocistos nas fezes. Este fato pode ter ocorrido neste estudo, nos felinos sorologicamente positivos e com amostras fecais negativas para oocistos de *T. gondii*.

Apesar de não ter sido diagnosticado oocisto de *T. gondii* nas fezes dos gatos domésticos de ambas as amostras populacionais desta pesquisa, outros parasitos gastrintestinais foram detectados. Dentre esses, os mais evidenciados foram ovos de ancilostomídeos e oocistos de *Cystoisospora rivolta* e *Cystoisospora felis*, principalmente nos gatos errantes que tiveram maior frequência nos exames coproparasitológicos. A predominância desses parasitos também foi observada por

Serra *et al.* (2003) em felinos de CCZ do Rio de Janeiro e por Torrico *et al.* (2008) em material fecal de gatos domiciliados em São Paulo. Também analisando animais cativos de gatil na Austrália, Palmer *et al.* (2008) diagnosticaram baixa frequência desses parasitos. Comparações da frequência de parasitoses gastrintestinais em gatos errantes estimada nesta pesquisa frente à literatura especializada ficaram prejudicadas, pois não foram encontrados dentre os artigos pesquisados estudos sobre essa temática neste grupo de animais. Pôde-se observar uma maior positividade de helmintos e protozoários nos gatos errantes. A falta de intervenção rotineira com medicamentos antiparasitários, associada à ampla circulação destes animais no peridomicílio pode ter determinado a maior frequência.

As parasitoses gastrintestinais podem causar diferentes manifestações clínicas nos gatos, destacando a diarreia, perda de peso, desidratação e até anemia (Barutzki e Schaper 2003). Alguns parasitos que acometem os animais domésticos podem apresentar um caráter zoonótico, como é o caso de *T. gondii*. Outras espécies de protozoários, que também pertencem a Família Sarcocystidae, porém sem importância zoonótica, como *C. rivolta* e *C. felis*, foram detectadas nas amostras fecais dos animais neste estudo. Apesar de não estar bem esclarecido o mecanismo de interação destes outros coccídios com o protozoário *T. gondii*, já foi observado por Lindsay *et al.* (1997) que, gatos previamente infectados com esse parasito, quando ingerem oocistos de *C. felis*, podem voltar a eliminar oocistos *T. gondii* e, assim, novamente contaminar o ambiente.

Ao avaliar de forma indireta a infecção de *T. gondii* nos gatos cativos foi demonstrado um percentual de positividade similar a demais estudos da região e nos gatos errantes um percentual de positividade inferior a outros estudos que foram utilizados como referência de literatura nesse trabalho. Já na análise direta não foram detectados oocistos desse protozoário nas fezes dos animais. Cabe ressaltar que o presente estudo além de avaliar a soroprevalência de forma pontual, como fazem os demais, priorizou, sempre que possível, a coleta de amostras em dois períodos distintos do mesmo animal individualmente identificados. Esse procedimento permitiu identificar animais que soroconverteram nas duas populações estudadas, o que demonstra a presença da infecção ou a contaminação ambiental em ambos locais estudado e ainda a possibilidade de dispersão do parasito no conjunto de condomínio.

6 PERSPECTIVAS

O estudo sobre a epidemiologia da Toxoplasmose em gatos domésticos continuará em uma linha que já está concretizada no Laboratório de Toxoplasmose do IOC/Fiocruz em colaboração com o Laboratório de Parasitologia da UFF. As próximas etapas serão:

- Isolamento de cistos de *T. gondii* em tecido de gatos que vão ao óbito por causas naturais ou que forem encaminhados a eutanásia;
- Detecção e infecção experimental de oocistos por meio da aquisição do segmento intestinal de gatos que vão ao óbito por causas naturais ou que forem encaminhados a eutanásia;
- Genotipagem das cepas de *T. gondii* circulantes nessas populações de animais;
- Comparação das técnicas mais utilizadas no diagnóstico imunológico de *T. gondii* para avaliação de parâmetros sorológicos;
- Avaliação ambiental da contaminação por *T. gondii* por meio de análises de água e solo dos locais estudados;
- Avaliação sorológica para *T. gondii* dos tratadores dos animais;

7 CONCLUSÕES

- A frequência de anticorpos anti-*T. gondii* na população de gatos cativos do gatil municipal foi similar a de outros estudos realizados no município do Rio de Janeiro com populações de felinos com as mesmas características;
- A frequência de anticorpos anti -*T. gondii* na população de gatos errantes do conjunto de condomínios localizado no município do Rio de Janeiro foi inferior a relatada na literatura;
- Foi verificada uma razoável concordância entre as duas técnicas sorológicas utilizadas, tendo a RIFI diagnosticado maior número de animais sororreagentes do que a HAI.
- A soroconversão foi identificada em ambos os grupos de felinos após o intervalo de no mínimo quatro meses e no máximo oito meses;
- Verificou-se diferentes perfis de soroconversão entre animais cativos e errantes sem diferença estatisticamente significativa e
- Não foi detectado oocisto com morfologia compatível com *T. gondii* nas amostras fecais dos gatos domésticos cativos e errantes, confirmando a dificuldade de encontrar tal estrutura.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdul-Ghani R. Polymerase chain reaction in the diagnosis of congenital toxoplasmosis: more than two decades of development and evaluation. *Parasitol Res.* 2011;108:505-12.

Adl S.M., Simpson A. G. B., Lane C. E., Lukes J., Bass D., Bowser S.S., Brown M. W., *et al.* The Revised Classification of Eukaryotes *J. Eukaryot. Microbiol.*, 2012; 59(5): 429-493 DOI: 10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x

Afonso, E., P. Thulliez, and E. Gilot-Fromont. Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). *Int. J. Parasitol.* 2006; (36): 1373–1382.

Akhtardanesh B, Ziaali N, Sharifi H, Rezaei S. Feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray and household cats in Kerman–Iran: Seroprevalence and correlation with clinical and laboratory findings. *Res Vet Sci.* 2010;89(2):306-10.

Amendoeira MRR, Camilo-Coura LF. Uma breve revisão sobre toxoplasmose na gestação. *Sci Med.* 2010;20(1):113-9.

Amendoeira MRR, Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: *Sarcocystidae*) e a Toxoplasmose. *Rev Souza Marques.* 1999;1(1):15-29.

Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoff C, Schwantje H, Ribble CS. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect.* 1999;122:305-15.

ASSAPE- Associação de Amigos do Península. Mapa adaptado, versão 8. 2008

Balasundaram MB, Andavar R, Palaniswamy M, Venkatapathy N, Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. *Arch Ophthalmol.* 2010;128:28-32.

Barbosa BF, Gomes AO, Ferro EA, Napolitano DR, Mineo JR, Silva NM. Enrofloxacin is able to control *Toxoplasma gondii* infection in both in vitro and in vivo experimental models. *Vet Parasitol.* 2012;187(1-2):44-52.

Barbosa W; Fernandes WJ; Pinheiro ZB; Teixeira AA; Oliveira GSC. Coccidios encontrados em felinos (*Felis catus domestica*) de goiânia. estudo de sua Biomorfologia. *Rev. Pat. Trop.* 1973 (2):3, 311-319.

Barros R.S., Menezes R.C., Pereira S.A., Figueiredo F. B., Oliveira R.V.C., Nicolau J.L., Neves L.B., Millar P.R., Kitada A.A.B., Amendoeira M.R.R. Feline Sporotrichosis: Coinfection with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus

and Feline Leukemia Virus in Cats From an Endemic Area in Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2015;(43):1316.

Barutzki D, Schaper R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999–2002. *Parasitol Res.* 2003;90:S148–S150. doi: 10.1007/s00436-003-0922-6.

Bastos BF, Brener B, Gershony L, Willi L, Labarthe N, Pereira C, *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) and retroviral status of client-owned pet cats (*Felis catus*, Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop.* 2014;56(3):201-3.

Benchimol E e Moreira RB. Toxoplasmose ocular. *Anais da Acad Nac de Med.* 1995. 155(4): 226-228.

Berger-Schocha A.E., Herrmannb D.C., Scharesb G., Müllera N., Bernetc D., Gottsteina B., Freya C.F. Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland *Veterinary Parasitology*, 2011. (177) 290–297 doi:10.1016/j.vetpar.2010.11.046

Black MW, Boothroyd JC. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; (64): 607–23.

Braccini G.L., Chaplin E.L., Stobe N.S., Araújo F.A.P. & Santos N.R. Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, nos anos de 1986 a 1990. *Arquivos da Faculdade Veterinária da UFRGS.* 1992. 20: 134-149.

Braga Mdo SCO, André MR, Jusi MMG, Freschi CR, Teixeira MCA, Machado RZ. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti- *Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. *Rev Bras Parasitol.* 2012;21(2):107-11.

Brasil, Ministério da Saúde; Glossário temático - Promoção da saúde - Projeto de terminologia da saúde. Brasília (Brasil): Secretaria-Executiva. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da saúde; 2012. Disponível em:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/glossario_promocao_saude_1ed.pdf

Bresciani KDS, Gennari SM, Serrano ACM, Rodrigues AAR, Ueno T, Franco LG, *et al.* Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. *Parasitol Res.* 2007;100(2):281-5.

Bresciani KDS, Galvão ALB, Vasconcellos AL, Gonges JF, Santos TR, Viol MA, *et al.* Epidemiology and control of toxoplasmosis in cats. *Toxoplasma gondii: Prevalence in Humans and Animals, Genetic Structure and Role in Disease Distribution.* Nova Publishers. 2013;23(1):95-108.

Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1989;27:1787-92.

Burke, TJ. Feline reproduction. *Feline Practice*. 1975; 5:16-9.

Cademartori BG. Toxoplasmose: Perfil Sorológico em gestantes atendidas em Postos de Saúde do Município de Pelotas-RS [dissertação]. Pelotas (RS): Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia; 2007.

Canon-Franco WA, Bergamaschi DP, Richtzenhain LJ, Nogueira Y, Camargo LMA, Souza SLP, *et al.* Evaluation of the performance of the modified direct agglutination test (MAT) for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2003;40(6):452-6.

Carmo EL, Póvoa MM, Monteiro NS, Marinho RR, Nascimento JM, Freitas SN, *et al.* Surto de toxoplasmose humana no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude*. 2010;1(1):61-6.

Carvalho Hosken S/A Bairros planejados- Península. 2013. [acesso em 5 de Agosto de 2015] Disponível em: <http://www.carvalhohosken.com.br/bairros-planejados/peninsula>

Castillo-Morales VJ, Viana KYA, Guzmán-Marín ES, Jiménez-Coello M, Segura-Correa JC, Aguilar-Caballero AJ, *et al.* Prevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from the tropics of Mexico using serological and molecular tests. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012; ID 529108:1-6. doi:10.1155/2012/529108

CEPERJ - Fundação Centro Estadual De Estatísticas, Pesquisas e Formação de Servidores Públicos do Rio de Janeiro. Mapa Da Região Metropolitana Do Rio de Janeiro 2013. [acesso em 5 de Agosto de 2015]. Disponível em: http://www.ceperj.rj.gov.br/ceep/info_territorios/RMRJ2013.pdf

Cerro L, Rubio A, Pinedo R, Mendes-de-Almeida F, Brener B, Labarthe N. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats (*Felis catus*, Linnaeus 1758) living in Lima, Peru. *Braz J Vet Parasitol*. 2014 Jan-Mar;23(1):90-3.

Chaplin E.L., Silva N.R.S. & Araujo F.A.P. Eliminação de oocistos tipo-toxoplasma por felinos naturalmente infectados. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 1991. 19: 77-81.

Coelho WM, do Amarante AF, Apolinário Jde C, Coelho NM, de Lima VM, Perri SH, Bresciani KD. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Leishmania* spp. infections and risk factors for cats from Brazil. *Parasitol Res*. 2011 Oct;109(4):1009-13. doi: 10.1007/s00436-011-2461-x.

Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W. 2000. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *Br Med J*. 15:142-7.

Costa DG, Marvulo MFV, Silva JSA, Santana SC, Magalhães FJR, Lima Filho CDF, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. J Parasitol. 2012;98(3):679-80.

Costa TL. Otimização e avaliação de métodos parasitológicos para diagnóstico da toxoplasmose em gestantes de risco e seus recém-nascidos após terapêutica específica [dissertação]. Goiania (GO): Universidade Federal de Goiás. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical; 2007.

Cruz MA, Ullmann LS, Montañó PY, Hoffmann JL, Langoni H, Biondo AW. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Paraná, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2011 Jul-Set;20(3):256-8.

Current, W. L.; Upton, S. J.; Long, P. L. Taxonomy and life cycles. In: Coccidiosis of man and domestic animals. Ed. LONG, P. L., Boca Raton: CRC Press, p. 2-16, 1990.

Dabritz H. A. ; Miller M. A.; Atwill E. R.; Gardner I. A.; Leutenegger C. M.; Melli A. C.; Conrad A. P. Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. JAVMA, 2007 231(11) 1676- 1684

Dabritz HA, Miller MA, Gardner IA, Packham AE, Atwill ER, Conrad PA. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in wild rodents from central coastal California and a review of *T. gondii* prevalence in rodents. J Parasitol. 2008;94:675-83.

Dabritz HA, Conrad PA. Cats and *Toxoplasma*: implications public health. Zoonoses Public Health. 2010;57:34-52.

Dannemann BR, Israelki DM, Leoung GS, McGraw T, Mills J, Remington JS. *Toxoplasma* serology, parasitemia and antigenemia in patients at risk for toxoplasmic encephalitis. AIDS. 1991;5:1363-5.

de Camps, S., Dubey J. P., Seville W. J. A., Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in zoo animals in selected zoos in the Midwestern United States. J. Parasitol. 2008;94, 648– 653.

Desmonts G.; Remington JS Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. Journal of Clinical Microbiology, 1980. 11(60) 562-568.

Dias RA, Freire RL. Surtos de toxoplasmose em seres humanos e animais. Semina: Cienc Agr.2005;26(2):239-48.

Dommet R., Zilbauer M., George TJ, Bajaj-Elliott m. Innate immune defence in the human gastrointestinal tract. Molecular Immunology, 2005 42 (8) 903–912.

Dabritz H.A., Miller M.A., Gardner I.A., Packham A.E., Atwill E.R., e Conrad P.A. Risk Factors for *Toxoplasma gondii* Infection in Wild Rodents from Central Coastal

California and a Review of *T. gondii* Prevalence in Rodents. *Journal of Parasitology*: June 2008, 94(3):675-683.

Driscoll CA, Raymond MM, Roca AL, Hupe K, Johnson WE, Geffen E, Harley E, Delibes M, Pontier D, Kitchener AC, Yamaguchi N, O'Brien SJ, Macdonald D. The Near Eastern Origin of Cat Domestication. *Science* 2007.317 (5837):519-523
DOI: 10.1126/science.1139518

Driscoll, C.A.; MacDonald, D.W.; O'Brien, S.J. "From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication". *PNAS* 2009;106 (S1): 9971-9978. DOI:10.1073/pnas.0901586106.

Dubey JP, Frenkel JK. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozool.* 1972; (19):155-177.

Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*, CRC Press: Boca Raton; 1988.

Dubey JP, Kotula AW, Sharar A, Andrews CD, Lindsay DS. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J. Parasitol.* 1990; (76):201-04.

Dubey JP. *Toxoplasmosis and other coccidial infections*. In: Sherding RG, editor. *The cat Diseases and Clinical Management*. New York: Churchill Livingstone; 1994. p. 565-605.

Dubey JP, Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J. Parasitol.* 1995;81(3):410-415

Dubey JP. Advances in the cycle of *toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 1998 Jul;28(7):1019-24.

Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev.* 1998a;1(2):267-99.

Dubey JP, Thayer DW, Speer CA, Shen SK. Effect of gamma irradiation on unsporulated and sporulated *Toxoplasma gondii* oocysts. *Int J Parasitol.* 1998b;28:369-75.

Dubey, J. P.; Navarro, I. T.; Sreekumar, C.; Dahl, E.; Freire, R. L.; Kawabata, H. H.; Vianna, M. C. B.; Kwok, O. C. H.; Shen, S. K.; Thulliez, P.; Lehmann, T. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *Journal of Parasitology*, Lawrence, 2004; 90(4):721-26.

Dubey JP, Lappin MR. *Toxoplasmosis and neosporosis*. In: Greene CE. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3^a ed. St Louis: Elsevier; 2006. p. 754-75.

Dubey JP, Su C, Cortés JA, Sundar N, Gomez-Marin JE, Polo LJ, *et al.* Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Vet Parasitol.* 2006 Apr;141(1-2):42-7.

Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol.* 2008; (38):1257-78.

Dubey JP. *Toxoplasmosis of animals and humans.* 2ª ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.

Dumetre A, Darde ML. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? *FEMS Microbiol Rev.* 2003;27:651-61.

Dumetre A, Le Bras C, Baffet M, Meneceur P, Dubey JP, Derouin F, *et al.* Effects of ozone and ultraviolet radiation treatments on the infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Vet Parasitol.* 2008;153:209-13.

Elmore AS, Jones JL, Conrad PA, Patton S, Lindsay DS, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: epidemiologia, aspectos clínicos felinos e prevenção. *Trends Parasitol.* 2010; 26(4):190-6.

Esteves F, Aguiar D, Rosado J, Costa ML, De Souza B, Antunes F, *et al.* *Toxoplasma gondii* prevalence in cats from Lisbon and in pigs from centre and south of Portugal. *Vet Parasitol.* 2014;200(1-2):8-12.

Faust, E. C. *et al.* A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. *The American Journal of Tropical Medicine,* 1938; 18:169.

Fernandez-Sabe N, Cervera C, Farinas MC. Risk factors, clinical features, and outcomes of toxoplasmosis in solid-organ transplant recipients: a matched case-control study. *Clin Infect Dis.* 2012;54:355-61.

Frenkel JK, Dubey JK, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science.* 1970;167:893-6.

Frenkel JK. *Advances in the biology of sprotozoa.* Z. Parasitenkd., 1974; (45):125-162

Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. Soil survival of toxoplasma oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg* 1975; (24): 439–43. In Furtado JM, Winthrop KL, Butler NJ, Smith JR. Ocular toxoplasmosis I: parasitology, epidemiology and public health. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2013;41(1):82-94.

Frenkel JK, Hassanein KM, Hassanein RS, Brown E, Thulliez P, Quintero-Nunez R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. *Am J Trop Med Hyg.* 1995. 53 (5): 458-68.

FUNASA – *Boletim Eletrônico EPIDEMIOLOGICO* – P.01-03, 20/08/02. Disponível:<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_eletronico_ano02_03.pdf> Acesso: março de 2014

Furtado JM, Winthrop KL, Butler NJ, Smith JR. Ocular toxoplasmosis I: parasitology, epidemiology and public health. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2013;41(1):82-94.

Galvão ALB, Vasconcellos AL de, Navarro IT, Bresciani KDS. Aspectos da toxoplasmose na clínica de pequenos animais. *Semina: Cienc Agr*. 2014 Jan/Fev;35(1):393-410.

Gauss CBL, Almería S, Ortuño A, Garcia F, Dubey JP. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from Barcelona, Spain. *J Parasitol*. 2003; 89(5): 1067-8.

Gomez-Marin JE, de-la-Torre A, Angel-Muller E, Rubio J, Arenas J, Osorio E, *et al*. First Colombian multicentric newborn screening for congenital toxoplasmosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(5):e1195.

Google maps Disponível:<<https://www.google.com.br/maps/place>> Acesso: dezembro de 2015

Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;8(10):634-40.

Hill DE, Benedetto SMC, Coss C, McCrary JL, Fournet VM, Dubey JP. Effects of time and temperature on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in enhanced pork loin. *J Food Prot*. 2006;69:1961-5.

Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Health Res Rev*. 2005;6(1):41-61.

Homan WL, Vercammen M, De Braekeleer J, Verschueren H. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *Int J Parasitol*. 2000;30:69-75.

Howe D.K; Honoré S.; Derouni F.; Sibely L. D. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolates from patients genotype with human disease. *Journal of Infections diseases*. 1995 172 (6): 1561-1566.

Hsu V, Grant DC, Zajac AM, Witonsky SG, Lindsay DS. Prevalence of IgG antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and *Toxoplasma gondii* in cats with and without chronic kidney disease from Virginia. *Vet Parasitol*. 2011 Feb;176(1):23-6.

Huber, F.; Bomfim, T. C.; Gomes, R. S. Comparação da eficiência da técnica de sedimentação pelo formaldeído-éter e da técnica de centrifugo-flutuação modificada na detecção de cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. em amostras fecais de bezerros. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 2, p. 135-137, 2003.

Hutchison WM. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature*. 1965; 206(987):961–962.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Mapas de condições Registradas. [acesso em 5 de Agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/html/clima.php>

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [acesso em Abril 2014] Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/biblioteca-home?id=239560&view=detalhes>

Jankü, J. Pathogenes a pathologická anatomie taknazvaného vrrrozeného kolobomu zluté skvrny v oku normálne velikém a mikrophthalmickém s nálezem parazitu v sítnici. *Casopis Lekaru Ceskych*. 1923;62:1021-7, 1054-9, 1081-5, 1111-5, 1138-44.

Jittapalaponga S, Nimsupana B, Pinyopanuwata N, Chimnoia W, Kabeyab H, Maruyamab S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. *Vet Parasitol*. 2007; Apr 10;145(1-2):138-141.

Jones CD, Okhravi N, Adamson P, Tasker S, Lightman S. Comparison of PCR detection methods for B1, P30, and 18S rDNA genes of *T. gondii* in aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:634-44.

Jones JL, Dargelas V, Roberts J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009;49:878-84.

Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis – recent developments. *Exp Parasitol*. 2010;124:10-25.

Kompalic-Cristo A, Britto C, Fernandes O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão *J Bras Patol Med Lab*. 2005 Ago;41(4):229-35.

LabTOXO, Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses; 2011.

Landis JR, Koch GG. An Application of Hierarchical Kappa-type Statistics in the Assessment of Majority Agreement among Multiple Observers. *Biometrics*. 1977 Jun;33(2):363-74.

Lappin MR, Gasper PW, Rose BJ, Powell CC. Effect of primary phase feline immunodeficiency virus infection on cats with chronic toxoplasmosis. *Vet Immunol Immunopathol*. 1992;35(1-2):121-31.

Lappin MR. Update on the diagnosis and management os *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Topics In Companion Animal Medicine*. 2010 Aug;25(3):136-41.

- Lilly and Wortham High prevalence of *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in stray and pet cats (*Felis catus*) in Virginia, United States *Parasites & Vectors* 2013, 6:266
- Lindsay D. S., Dubey J. P., Blagburn B. L. Biology of *Isospora* spp. from Humans, Nonhuman Primates, and Domestic Animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997, 10 (1) p. 19–34
- Lindsay DS, Collins MV, Holliman D, Flick GJ, Dubey JP. Effects of high-pressure processing on *Toxoplasma gondii* tissue cysts in ground pork. *J Parasitol.* 2006;92:195-6.
- Lopes CCH, Berto BP. Aspectos associados à toxoplasmose: uma referência aos principais surtos no Brasil. *Saúde & Amb Rev.* 2012;7(2):1-7.
- Maruyama S, Kabeya H, Nakao R, Tanaka S, Sakai T, Xuan X, *et al.* Estudo da soroprevalência da *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV e FeLV Infecções em gatos domésticos no Japão. *Microbiol Immunol.* 2003;47:147-53.
- Mendes-de-Almeida F., Labarthe N., Guerrero J., Faria M. C. F., Branco A. S., Pereira C. D., *et al.*. Follow-up of the health conditions of an urban colony of free-roaming cats (*Felis catus* Linnaeus, 1758) in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology* 2007 (147): 9–15 doi:10.1016/j.vetpar.2007.03.035
- Millar PR. Sobreiro LG, Bonna ICF, Amendoeira MRR. A importância dos animais de produção para a infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. *Semina: Cien Agr.* 2008;29(3):693-706.
- Ministério da Saúde, Glossário temático - Promoção da saúde - Projeto de terminologia da saúde, Brasília, DF, 2012, Biblioteca Virtual em saúde do Ministério da saúde, www.saude.gov.br/bvs
- Miró G, Montoya A, Jiménez S, Frisuelos C, Mateo M, Fuentes I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Vet Parasitol* 2004; 126(3): 249- 255. PMID:15567588. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.08.015>
- Neighborhood Cats [Acesso 24 de novembro de 2015] Disponível: http://www.neighborhoodcats.org/HOW_TO_WHAT_IS_FERAL_CAT. Trecho retirado e traduzido do site dos Neighborhood Cats, de New York e um dos projetos mundiais pioneiros e mais.
- Netto EG, Munhoz AD, Albuquerque GR, Lopes CWG, Ferreira AMR. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio De Janeiro. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2003;12(4):145-9.
- Nicolle C, Manceaux L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du *Gondi*. *C R Acad Sci.* 1908;147:763-6. In: In: Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 104(2), 2009.

Opsteegh M, Haveman R, Swart AN, Mensink-Beerepoot ME, Hofhuis A, Langelaar MFM, *et al.* Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats in The Netherlands. *Prev Vet Med.* 2012;104(3-4):317-26.

Palmer C.S., Thompson R.C.A., Traub R.J., Rees R., Robertson I.D. National study of the gastrointestinal parasites of dogs and cats in Australia. *Veterinary Parasitology* 2008 (151) 181-190. doi:10.1016/j.vetpar.2007.10.015
parazitu v sítnici. *Casopis Lekarů Ceských.* 1923;62:1021-7, 1054-9, 1081-5, 1111-5, 1138-44.

Pena HFJ, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Res Vet Sci.* 2006;81:58-67.

Pena, H.F.J. Isolamento e caracterização biológica e genotípica de *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909) de gatos do estado de São Paulo (Tese-Doutorado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004

Pfreppe KI, Enders G, Gohl M, Krczal D, Hlobil H, Wassenberg D, *et al.* Seroreactivity to and avidity for recombinant antigens in toxoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:977 – 82

Pinkerton H, Weinman D. Toxoplasmosis infection in man. *Archives of Pathology.* 1940;30:374-92.

Pinto LD, De Araujo FAP, Stobb NS, Marques SMT. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Cienc Rural.* 2009;39(8):2464-9.

Portal Brasil. Meio Ambiente. [acesso em de 5 Agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2009/10/biomas-brasileiros>

Qiana W., Wanga H., Sub C., Shana D., Cuia X., Yanga N., Lvc C., Liua Q. Isolation and characterization of *Toxoplasma gondii* strains from stray cats revealed a single genotype in Beijing, China. *Veterinary Parasitology* 2012 (187) 408– 413 doi:10.1016/j.vetpar.2012.01.026

Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein J, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant.* 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 205-346.

Renold C, Sugar A, Chave JP, Perrin L, Delavelle J, Pizzolato G, Burkhard P, Gabriel V and Hirschel B. *Toxoplasma* encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Medicine* 1992; (71): 224–239.

Ribeiro S.R., Furst C. Parasitological stool sample exam by spontaneous sedimentation method using conical tubes: effectiveness, practice, and biosafety. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2012 (45), pp. 399–401

Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *CMR Journals.asm.org: Clin Microbiol Rev.* 2012;25(2):264-96.

Rorman E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis—prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. *Reprod Toxicol.* 2006;21(4):458-72.

Rosa LD, De Moura AB, Trevisani N, Medeiros AP, Sartor AA, De Souza AP, *et al.* *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2010;19(4):268-9.

Saadatnia G. e Golkar M. A review on human toxoplasmosis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2012; (44): 805–814. DOI: 10.3109/00365548.2012.693197

Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science.* 1948;108:660-3.

Salant, H. Markovics A. b, Spira D. T. a, Hamburger J. a. The development of a molecular approach for coprodiagnosis of *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.* 2007. 146, 214–220

Schares G., Vrhovec M. G., Pantchev N. , Herrmann D.C. , Conraths F.J. Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* oocysts in the faeces of cats from Germany and other European countries. *Veterinary Parasitology* 2008 (152) 34–45 doi:10.1016/j.vetpar.2007.12.004

Schnell M. Toxoplasmose felina - Revisão de literatura e soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em felinos domésticos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária da UFRGS (monografia). Porto Alegre (RS) Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Faculdade de Veterinária; 2011.

Serra C. M. B., Uchôa C. M. A. e Coimbra R. A. Exame parasitológico de fezes de gatos (*Felis catus domesticus*) domiciliados e errantes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2003;36(3):331-334.

Sheather, A. T. The detection of intestinal protozoa and mungie parasites by a flotation technique. *Journal of Comparative Pathology.* 1923. 36, 266-275,

Sheffield, H. G., & Melton, M. L.. The Fine Structure and Reproduction of *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Parasitology*, 1968; 54(2), 209–226. <http://doi.org/10.2307/3276925>

Smith, K.E., Zimmerman, J.J., Patton, S., Beran, G.W. and Hill, H.T. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa swine farms with an emphasis on the roles of free-living mammals. *Vet.Parasitol*, 1992. (42):199-211.

Spalding S. M., Amendoeira M. R.R., Klein C. H. e Ribeiro L. C. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2005 38(2):173-177.

Splendore A. Un nuovo protozoa parassita de conigli encontrado nelle lesioni anatomiche d.une malattiache ricorda in moltoprinti il kalazar dell.uomo: nota reliminare pel. *Rev da Soc Cient de São Paulo*. 1908;3:109-12. In: *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de janeiro, Vol. 104(2)*, 2009.

Switzer AD, McMillan-Cole AC, Kasten RW, Stuckey MJ, Kass PH, Chomel BB. *Bartonella* and *Toxoplasma* Infections in Stray Cats from Iraq. *Am J Trop Med Hyg*. 2013;89(6):1219-24.

Temoche LFC. Frequência de *Toxoplasma gondii* (Nicolle; Manceaux, 1909) em gatos (*Felis catus*, Linnaeus 1758) residentes em duas áreas distintas da América Latina [dissertação]. Niterói (RJ): Universidade Federal Fluminense. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Área de Concentração em Clínica e Reprodução Animal; 2012.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol*. 2000;30(12-13):1217-1258. Errata em: *Int J Parasitol*. 2001;31(2):217-20.

Toniollo GH, Cury SR, Vicente WRR, Camacho AA, Garcia JM e Vantini R. Colpocitologia do ciclo estral em gatas. *Bras. j. vet. Res. anim. Sci. São Paulo*, 1995. 32(2): 125-129.

Torrice K. J., Santos K.R., Martins T., Silva F.M. P., Takahira R. K. e Lopes R. Ocorrência de parasitas gastrointestinais em cães e gatos na rotina do laboratório de enfermidades parasitárias da FMVZ/UNESP- Botucatu, SP. *S. Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2008 17(1) 182-183.

Uchôa, C. M. A., Duarte, R., Laurentino-Silva, V., Alexandre, G. M. C., Ferreira, H. G., & Amendoeira, M. R. R. (1999). Padronização de ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de imunofluorescência indireta. *Rev Soc Bras Med Trop*, 32(6), 661-9.

VanWormer E, Fritz H, Shapiro K, Mazet JAK, Conrad PA. Molecules to modeling: *Toxoplasma gondii* oocysts at the human–animal–environment interface. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2013 May;36(3):217-31.

Vollaire MR, Radecki SV, Lappin MR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. *Am J Vet Res*. 2005;66(5):874-7.

Wang Q, Jiang W, Chen YJ, Liu CY, Shi JL, Li XT. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies, circulating antigens and DNA in stray cats in Shanghai, China. *Parasit Vectors*. 2012;5:190.

Wiener Lab. Toxotest HAI 2000, Prueba de Hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* Argentina. Bula. [acceso: 08 Agosto 2014.] Disponible em: < <http://www.wiener-lab.com.ar>>

Wills J e Wolf A. Manual de Medicina Felina. ACRIBIA, 2000

Wolf A, Cowen D. Granulomatous encephalomyelitis due to a protozoan disease of man. Bull Neurol Inst NY. 1937;6:306-71.

Yang Y, Ying Y, Verma SK, Cassinelli AB, Kwok OC, Liang H, *et al.* Isolation and genetic characterization of viable *Toxoplasma gondii* from tissues and feces of cats from the central region of China. Vet Parasitol. 2015;211(3-4):283-8.

9 ANEXOS:

9.1 Anexo 1: Folder : "Toxoplasmose felina. O que é e como prevenir?"

COMO EU ME PREVINO?

- Lave bem as mãos, facas e outros utensílios após manusear carne crua.
- Frutas, verduras e legumes crus devem ser cuidadosamente lavados antes do consumo.



- Consuma apenas carnes bem cozidas, leite pasteurizado ou fervido e de boa procedência.



- Lave sempre as mãos, com água limpa corrente e sabão, antes de comer e após manipular a terra, hortaliças, caixas de areia e animais.



- Use luvas ao manejar terra e caixas de areia.



- Faça o controle de moscas, baratas e formigas.
- Grávidas devem solicitar ajuda de outra pessoa para limpar as caixas de areia de seu gato. Tomando alguns cuidados você pode conviver com seu animal de estimação sem problemas.

O QUE É TOXOPLASMOSE?

É uma zoonose (doença que acomete diversos animais domésticos e o homem), causada por um protozoário chamado *Toxoplasma gondii*. Também conhecida como "Doença do Gato".



MEU GATO PODE FICAR DOENTE?

A doença clínica em gatos é rara, porém quando presente, os sinais e sintomas mais frequentes são: febre, tosse, dificuldade de respirar, sonolência, perda de apetite, vômito, diarreia e mucosas amareladas, além da ocorrência de alterações cardíacas, neurológicas e oculares.

Em gatas prenhas pode causar aborto, morte do feto (natimorto) e morte após o nascimento (neonatal). E nos casos graves pode ocorrer morte súbita do animal.

Laboratório de Toxoplasmose
IOC/Fiocruz - Rio de Janeiro/Brasil

Projeto:

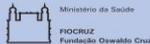
"Estudo da Infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos (*Felis catus*) no Rio de Janeiro".

Responsáveis: Dr. Maria Regina Reis Amendoeira e Pâmela Figueiredo Pereira

Colaboração: Me Fernanda Loureiro de Moura

Ilustrações: Renata Loureiro de Moura

Projeto Gráfico: Heloisa Maria Nogueira Diniz



TOXOPLASMOSE FELINA O que é e como prevenir?



Rio de Janeiro
2015

COMO O GATO PEGA A INFECÇÃO?

- Comendo carnes e vísceras infectadas, cruas ou mal cozidas.
- Bebendo leite cru e comendo ovos crus ou mal cozidos.
- Caçando insetos e roedores que eventualmente possam estar infectados.
- Bebendo água contaminada com formas resistentes do parasita.
- Transmissão do parasita da mãe com infecção aguda para o filhote, durante a gravidez e a amamentação.
- Contato com fezes de gatos infectados.

EU TENHO RISCO DE PEGAR A INFECÇÃO DO MEU GATO?



O risco de adquirir a Toxoplasmose não está necessariamente ligado à ter ou não ter um gato de estimação, mas a forma como as pessoas criam esses animais.

Ter cuidados básicos de higiene e alimentação adequada na criação do seu gato diminui muito os riscos.

TRATAMENTO

Somente o médico veterinário é capaz de avaliar e orientar sobre o tratamento do animal.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da infecção por *Toxoplasma gondii* se faz pelo exame de sangue e de fezes.

É fundamental que seu animal seja levado ao veterinário, pelo menos uma vez ao ano, para fazer avaliações de rotina e manter a vermifugação e vacinação em dia.

COMO EVITO QUE MEU GATO SE INFECTE?

- Forneça ao seu gato apenas ração ou patê industrializados, no caso de alimentos preparados, nunca dê carnes cruas ou mal cozidas.
- Troque todos os dias a água do pote de seu animal por água limpa e tratada.
- Opte pela castração para que seu gato vá menos a rua e tenha contato com animais infectados.
- Mantenha os gatos dentro de casa.
- Limpe a caixa de areia frequentemente com pó, água e sabão, usando luvas e máscaras descartáveis. O parasita não se torna infeccioso até 5 dias após ter sido eliminado nas fezes de um gato.



9.2 Anexo 2: Formulário de solicitação de registro de obra autoral.

FORMULÁRIO DE SOLICITAÇÃO DE REGISTRO DE OBRA AUTURAL

Instruções para o preenchimento e encaminhamento:

- a) Todos os campos devem ser preenchidos;
- b) A Fiocruz ao explorar obra autoral de sua titularidade reserva-se o direito de reter uma licença gratuita, intransferível, irrevogável da obra autoral, para uso próprio, para fins educacionais e culturais;
- c) Ao encaminhar este Formulário ao NIT de sua Unidade, os autores envolvidos com a presente obra autoral declaram que todas as indicações feitas neste documento sobre seus conhecimentos são verdadeiras, assim como todas as informações e opiniões;
- d) Este formulário deverá ser preenchido, assinado e entregue ao NIT de sua Unidade juntamente com a seguinte documentação:
- I- Cópia do documento de identificação de todos os autores da obra autoral;
 - II- Cópia de documento comprovante de vínculo com a Fiocruz de todos os autores, se houver;
 - III- 02 (duas) vias do Termo de Cessão de Direitos Autorais Patrimoniais (Anexo) assinadas;
 - IV- 01 (uma) exemplar da obra autoral.

1 - **Título da obra:** "Toxoplasmose felina, o que é e como prevenir?"

2 - Tipo de obra:

- () Textos científicos - Textos literários - Textos didáticos
- () Fotografia científica:
- () Fotografia de pessoas
 - () Fotografia de ambiente natural ou construído
- () Audiovisual
- () Música
- () Games/jogos
- () Artes visuais: pinturas, esculturas
- () Artes gráficas: desenhos, ilustrações
- () Artes dramáticas: teatro, dança
- () Banco de Dados
- (x) Outros: folder

3. **Descrição da obra:** Trata-se de um folder ilustrado com informações sobre a toxoplasmose felina, ressaltando principalmente as formas de transmissão e medidas preventivas do *Toxoplasma gondii*.

4. A obra está pronta?

- x Sim
- Não. Em que estágio ela se encontra?

5. **Público-alvo:** Proprietários e manipuladores de gatos

6 - Autores:

(1)	Nome: Pâmela Figueiredo Pereira	
Informações Institucionais	Unidade: Instituto Oswaldo Cruz	
	Laboratório: Toxoplasmose	
	Telefone (s): 25621844	
	E-mail(s): pamela.pereira@ioc.fiocruz.br	
	Vínculo com a Fiocruz: Técnica em saúde pública- servidora estatutária	
	Vinculado a outras instituições (públicas ou privadas)? (x) NÃO () SIM	
	Caso positivo, Qual?	
	Vínculo com a obra: (x) Autor(a) () Adaptador () Tradutor () Ilustrador () Organizador () Fotógrafo () Editor () Outros	
Informações Pessoais	Identidade: 21.305.271-5	Órgão Expedidor DETRAN RJ
	CPF: 121.859.557-48	Data de nascimento: 06/07/1988
	Nacionalidade: Brasileira	Naturalidade: Duque de Caxias-RJ
	Endereço Residencial: Rua Parapiacaba, Lote 15, Quadra 54, Vila Rosário, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, CEP:25041-000.	