



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL- CSTR
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA - UAMV
CAMPUS DE PATOS

MONOGRAFIA

**ISOLAMENTO DO *Toxoplasma gondii* DE GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) DE
CRIAÇÕES DOMÉSTICAS EM CAMUNDONGOS NO ESTADO DA PARAÍBA,
BRASIL**

João Leite de Almeida Neto

PATOS-PB
Outubro de 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL- CSTR
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA - UAMV
CAMPUS DE PATOS

MONOGRAFIA

**ISOLAMENTO DO *Toxoplasma gondii* DE GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) DE
CRIAÇÕES DOMÉSTICAS EM CAMUNDONGOS NO ESTADO DA PARAÍBA,
BRASIL**

João leite de Almeida Neto
Graduando

Prof^a. Dr^a. Ana Célia Rodrigues Athayde
Orientadora

Patos-PB
Outubro de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINARIA

JOÃO LEITE DE ALMEIDA NETO

Graduando

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para a
obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADA EM 25/10/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a DSc. Ana Célia Rodrigues Athayde
Orientadora

Prof.^a DSc. Wilson Wouflan Silva
Examinador I

Prof. MSc. Vanessa Diniz Vieira
Examinador II

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

A447i Almeida Neto, João Leite de
Isolamento do *Toxoplasma gondii* de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas em camundongos no estado da Paraíba, Brasil / João Leite de Almeida Neto.- Patos, 2016
34f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

“Orientação: Profa. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde”

Referências.

1. Bioensaio. 2. Virulência. 3. Toxoplasmose aguda. I. Título.

CDU 576.8:619

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus por ser o principal responsável por esta conquista e aos meus pais que não mediram esforços para que este sonho se concretizasse.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, pelo dom da vida, por minha família, por ter me orientado durante essa caminhada, por tudo o que o senhor realizou na minha vida, pois mesmo diante da minha pequenez Ele realizou em mim grandes obras, quando tudo parecia impossível, **Deus** me fez acreditar que tudo ia dá certo, obrigado **Senhor** por ser o autor da minha história e por ter me ensinado que momentos difíceis só são ruins se nenhum aprendizado tirarmos desses momentos;

Aos meus pais, **Pedro Firmino da Silva e Damiana Leite de Almeida Silva**, pelos exemplos de vida que são, pois com eles percebi que a verdadeira felicidade depende de o quanto estamos bem com consigo e com a família, agradeço por terem acreditado num sonho que não foi só meu, mas de toda minha família, eles que diante das dificuldades enfrentadas não mediram esforços, abdicando de muitas coisas para que eu continuasse;

Aos meus irmãos **Francisco Petrônio Firmino da Silva, Antonio Firmino da Silva e Maria Dapaz Firmino da Silva (mara)**, pois mesmo diante das diferenças que acredito todos irmãos terem, minhas maiores alegrias são partilhadas com eles com também nos momentos difíceis, sempre estamos juntos;

Aos meus tios e tias, em especial a minha tia **Geralda Leite de Almeida Câmara** que tanto me ajudou, nunca medindo esforços, sempre me dando apoio pra seguir em frente e ajudando das mais variadas formas a mim e a minha família;

A minha avó **Luzia Mamede da Silva**, por ter me ajudado da forma que pôde nesta caminhada, ao meus avós In Memoriam: **João Leite de Almeida, Manoel Firmino de Almeida e Terezinha Alexandria Leite**;

A **Vinicius Vilela, Thais Feitosa e Vanessa Diniz** por todos os conhecimentos repassados, pela inestimável colaboração durante o curso, auxílio na elaboração dos projetos e a todos os colegas do LDPAD, **Lídio Ricardo, Diego Vagner, Dayana Moraes e Gian Libânio**, o meu muito obrigado;

A Professora **Ana Célia**, pelo apoio que me deu diante as dificuldades encontradas no decorrer dos projetos de pesquisa, nos quais me orientou;

Aos meus primos, de modo especial, **Damião Bozano, Lázaro, Gilmária, Gilmagna, Vitória, Maria da Paz, Socorro, Damião, Marcos, Netinha, Jaysa e Jacksom**(In Memoriam);

Aos amigos que cultivei na princesinha do vale (Olho d' Água) de modo especial, **padrinho Adriano, Inácio evangelista, Fabrício, Fábulo, Inácio Pereira (Dudinha), Damião Pereira e José Cazuz**;

Aos amigos e colegas da RUSAN em especial aos companheiros do quarto 14, **Rosilvan Ramos, Brunark Carvalho, Maronilson Leite, Gilson Ludgério, Thiago Pinheiro e Ítalo Roberto** que partilharam comigo muitos momentos de alegria, e aos demais amigos e amigas da RUSAN, que fiz durante esses 5 anos de caminhada, **Jucier Jales, Rafael Lopes, Caio Raniele, Vinicius Santos, Marcos Mendonça, Neto Gregório, Gabriel, Ariano, Érico, Pedro, João Pereira, Cleyjerfeson, Bruna, Juliana, Mikaely, Jaciely, Aline, Jamile, Ariane, Marthana, Angelina, Karolyne**;

Aos professores e médicos veterinários que contribuíram para o meu crescimento profissional com os seus ensinamentos;

A todos os funcionários RU da UFCG/Patos-PB pela a atenção, alimentação oferecida todos os dias e pelo carinho de todos;

Aos funcionários do CSTR que desempenharam o seu papel de forma inestimável, prestando um serviço de qualidade durante esse período;

A todos os colegas de curso e principalmente de turma pelos conhecimento repassado e por tantos momentos bons que se repetiram durante esta caminhada ***Wanesk Kerlly, Thiago Dantas, Mayara Guedes, Issac Santos, Paulo Antônio, Angelina Santana, Antônio Carlos, Jussier Jurandi, João Paulo, Antônio Gonçalves, Clésio Paiva, Antônio Neto, Tobias Dantas, Thiago Alves, Saul Fonseca;***

As demais pessoas que deixaram de ser aqui mencionadas, mas que tiveram importante participação na realização deste trabalho de conclusão da minha jornada no curso de Medicina Veterinária.

A todos meu muito obrigado e que Deus nos abençoe sempre!

“Dê-me, Senhor, agudeza para entender, capacidade para reter, método e faculdade para aprender, sutileza para interpretar, graça e abundância para falar. Dê-me, Senhor, acerto ao começar, direção ao progredir e perfeição ao concluir.”

São Tomás de Aquino

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Histórico	14
2.2 Agente	14
2.3. Ciclo biológico	14
2.3.1 Hospedeiro intermediário	15
2.3.2 Hospedeiro definitivo	16
2.4 Epidemiologia.....	16
2.5 Aspectos epidemiológicos da toxoplasmose na saúde pública.....	17
2.6 Aspectos da infecção pelo <i>T. gondii</i> nos animais domésticos.....	17
2.7 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo <i>T.gondii</i> em galinhas	18
2.8 Inoculação em camundongo	19
2.9 Transmissão	20
2.10 Diagnóstico.....	20
2.11 Tratamento.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Caracterização da área	22

3.2 Procedência dos animais.....	22
3.3 Local do experimento	22
3.4 Procedimento ético	23
3.5 Isolamentos de <i>T. gondii</i> em camundongos.....	23
3.5.1 Digestão péptica de tecidos	23
3.5.2 Bioensaio em camundongos	24
3.6 Análise estatística	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5 CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo biológico do <i>Toxoplasma gondii</i>	15
Figura 2- Localização no mapa dos municípios: Olho d' Água, Malta, Patos, Monteiro e Esperança, Estado da Paraíba	22
Figura 3- Inoculação da amostra em camundongo Swiss	24
Figura 4- Reação de Imunofluorescência direta para pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i>	25
Figura 5- cisto contendo bradizoítos isolado do cérebro de camundongo (seta), aumento 400 microscópio óptico comum.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Frequência de isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i> por bioensaio em camundongos de galinhas soropositivas do estado da Paraíba.....	26
--	----

ALMEIDA NETO, JOÃO LEITE DE. **Isolamento do *Toxoplasma gondii* de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas em camundongos no estado da Paraíba, Brasil.** Patos-PB, UFCG, 2015, 34p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária). Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande.

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi realizar o isolamento e observar a virulência de *toxoplasma gondii* de galinhas domésticas soropositivas em camundongos swiss. Do total de 152 animais soropositivos 33 foram submetidos ao bioensaio, para a realização do bioensaio foram utilizados amostras do cérebro e coração na quantidade de 1,0mL por animal por via subcutânea. Os títulos de anticorpos anti *T. gondii* variaram de 1:16 a 1:4096, sendo mais frequente o 1:64 (44/152). Dos animais positivos, 71 foram submetidos ao bioensaio em camundongo para isolamento, obtendo-se 33 isolados, dos quais, 27 (81,8%) foram letais para pelo menos um dos camundongos inoculados, estes vieram a óbito entre os dias 16 e 45 pós-inoculação (p. i.) por toxoplasmose aguda confirmada através da presença do parasita nos tecidos dos animais. 21 (63,6%) isolados foram letais para todos os inoculados e em seis (18,2%) isolados todos os camundongos resistiram até os 42 dias p. i. quando então foi realizada a sorologia e os positivos foram eutanasiados no dia 60 p. i., com detecção do parasita em seus tecidos. Observou-se que a porcentagem de isolamento aumentava à medida que os títulos de anticorpos eram maiores, chegando a 100% de isolamento nos títulos superiores a 2048, o resultado obtido indica contaminação ambiental com alto índice de virulência indicando a possibilidade de infecção humana como também de animais pertencentes à região estudada.

Palavras chaves: Bioensaio, virulência, toxoplasmose aguda.

ALMEIDA NETO, JOÃO LEITE DE. *Toxoplasma gondii* isolation chickens (*Gallus gallus domesticus*) of domestic livestock in mice in the state of Paraíba, Brazil. Patos-PB, UFCG, 2016, 34p. Monograph (Work Completion of course in Veterinary Medicine). Academic Unit of Veterinary Medicine, Federal University of Campina Grande.

ABSTRACT

The objective the research was to perform the isolation and watching the *toxoplasma gondii* virulence of HIV-positive domestic chickens in Swiss mice Of the total of 152 33 seropositive animals were subjected to bioassay, the bioassay for the brain and heart samples were used in the amount of 1.0 mL per animal subcutaneously. The titers of anti *T. gondii* antibodies ranged from 1:16 to 1: 4096, the most frequent 1:64 (44/152). The positive animals, 71 were submitted to the mouse bioassay for insulation, resulting in 33 isolates, of which 27 (81.8%) were lethal to at least one of inoculated mice, they came to death between 16 and 45 post-inoculation (p. i.) acute toxoplasmosis confirmed by the presence of the parasite in the tissues of animals. 21 (63.6%) isolates were lethal to all inoculated and six (18.2%) isolates all mice survived up to 42 days p. i. whereupon it was carried out serology and positive were euthanized on day 60 p. i., with detection of the parasite in their tissues. It was observed that the percentage of isolation increased as antibody titers were higher, reaching 100% isolated in titers greater than 2048, the obtained results indicate environmental contamination with high virulence index indicating the possibility of human infection as well as animals of the region studied.

Keywords: bioassay, virulence, acute toxoplasmosis.

1 INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias merecem destaque primordial na saúde pública e na sanidade animal, algumas delas, consideradas de grande importância na medicina veterinária são causadas por protozoários, os quais são responsáveis por várias patologias que acometem animais e seres humanos.

O *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é um protozoário que tem como hospedeiros intermediários praticamente todos os animais homeotérmicos e como seu hospedeiro definitivo o gato. A doença causada por este parasita é a toxoplasmose, considerada uma zoonose de importância cosmopolita afetando tanto animais quanto humanos. Nos humanos, são considerados grupos de risco as mulheres grávidas, nas quais pode causar aborto ou má formação fetal, e os indivíduos imunocromprometidos, podendo nestes causar encefalite toxoplasmática e outras complicações. Nos animais de produção, causa perdas econômicas, devido a ocorrência de abortos, refletindo na economia, além de ser um problema para saúde pública, visto que a maioria que esses animais fazem parte da alimentação humana. Dentre os animais domésticos a galinha merece destaque pelo fato de ser uma carne bastante presente na mesa dos brasileiros, sendo assim potencial fonte de infecção para humanos e carnívoros.

Devido à importância das galinhas na transmissão da toxoplasmose para os seres humanos, faz-se necessário um estudo que mostre a situação destes protozoários em aves criadas no estado da Paraíba, já que há a escassez de estudos realizados nesta área. Portanto, este trabalho teve como objetivo realizar o isolamento do *T. gondii*, a partir de tecidos (cérebro e coração) de galinhas de criação doméstica soropositivas, provenientes dos municípios de Olho d' Água, Malta, Patos, Monteiro e Esperança, estado da Paraíba, assim como observar a virulência de *T. gondii* de galinhas domésticas soropositivas em camundongos Swiss.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

O *Toxoplasma* foi descoberto por Nicolle e Manceaux no ano de 1908, que relataram a presença de um parasita intracelular encontrado em um roedor, na África do Norte. No mesmo ano o parasito foi descrito em coelhos no Brasil por Splendore (1908). No de 1909 Nicolle e Manceaux descreveram o parasito e criaram o gênero toxoplasma e a espécie *T. gondii*, sendo o gênero baseado na morfologia (toxoplasma deriva do grego e significa “forma de arco”) e a espécie no nome do roedor, *Ctenodatylyus gondii* (BLACK; BOOTHROYD, 2000; KAWAZOE, 2005; SCHNELL, 2011).

2.2 Agente

Segundo Taylor; Coop; Wall (2005) o *T. gondii* apresenta a seguinte classificação: reino Protista, subreino Protozoa, filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiorida, família Sarcocystiidae, gênero *Toxoplasma*, espécie *gondii*.

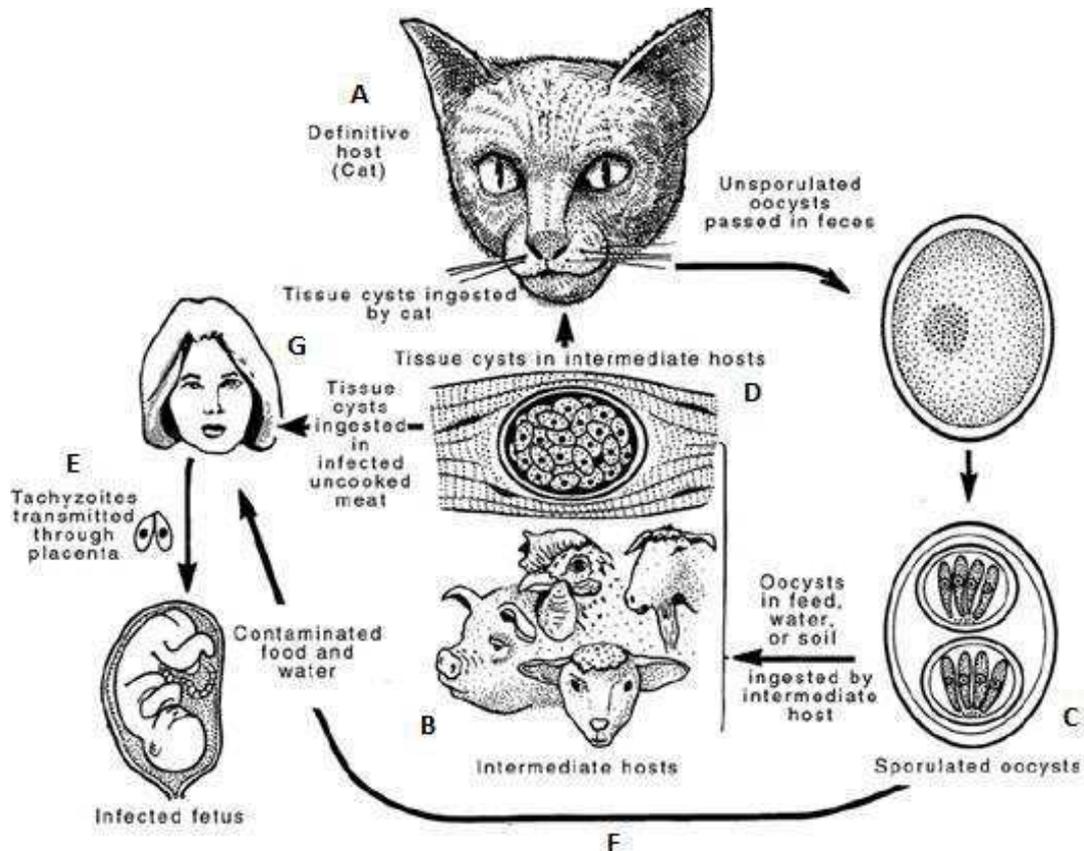
2.3 Ciclo biológico

O ciclo de vida do *T. gondii* é heteróximo facultativo, esse ciclo se desenvolve em duas fases distintas, uma fase sexuada que ocorre somente nas células epiteliais do intestino do gato e de outros felídeos, e uma fase assexuada que ocorre nos tecidos extra-intestinais de vários hospedeiros, inclusive do gato (Figura 1). Sendo os gatos considerados hospedeiros completo por possuírem as duas fases do ciclo. O homem, outros mamíferos e as aves são considerados hospedeiros incompletos, pois apresentam apenas um ciclo assexuado (TENTER et al., 2000; NEVES et al., 2005).

O oocisto do *T. gondii* é pequeno medindo cerca de 11-13 µm de diâmetro, contém um único esporonte e está sob forma não infectante quando eliminado nas fezes. Diante de condições ideais de temperatura, pressão, oxigenação e umidade a esporulação dos oocistos se completa em torno de 5 dias e resulta na formação de dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada (ARAÚJO et al., 2003; BOWMAN, 2010). O oocisto esporulado é infectante quando ingerido apenas por animais homeotérmicos, incluindo os felinos. Uma vez ingeridos, os oocistos esporulados são resistentes a digestão pelo suco gástrico e alcançam a

luz intestinal onde liberam os esporozoítos, os quais penetram o epitélio da mucosa intestinal originando a forma de multiplicação rápida os taquizoítos (DUBEY, 2004).

Figura 1- Ciclo biológico do *T. gondii*: A - hospedeiro definitivo; B – hospedeiros intermediários; C - oocistos esporulados; D - cistos teciduais; E – taquizoítos; e as vias de infecção: F - fecal-oral; G – carnivorismo; e H – transplacentária.



Fonte: Adaptado de DUBEY (2006).

2.3.1 Hospedeiro intermediário

Os oocistos contendo esporozoítos ou cistos teciduais contendo bradizoítos ao serem ingeridos pelo hospedeiro intermediário irão invadir o epitélio do intestino delgado, transformando-se em taquizoítos, após rápida passagem pelo epitélio intestinal, estes invadirão vários tipos de célula do organismo formando um vacúolo parasitóforo, onde sofrerão divisões sucessivas por endodiogenia, formando assim novos taquizoítos, os quais romperão a célula parasitada e invadirão novas células, disseminando-se pelo organismo. A resposta imune do hospedeiro limita a multiplicação dos taquizoítos, resultando na formação de cistos teciduais contendo as formas de multiplicação lenta, os bradizoítos, os quais se

formam no cérebro, músculos estriados e outros tecidos, mantendo-se viáveis por toda vida do animal (KASPER; BOOTHPOYD, 1993; NEVES et al., 2005; BOWMAN, 2010).

2.3.2 Hospedeiro definitivo

O ciclo sexuado inicia quando o hospedeiro definitivo ingere oocistos contendo esporozoítos ou cistos teciduais contendo bradizoítos, durante o desenvolvimento desse ciclo ocorre uma fase assexuada (merogonia) e outra sexuada (gamogonia) do *T. gondii*. Após a ingestão oocistos ou cistos teciduais, respectivamente, os esporozoítos ou bradizoítos, são liberados no intestino delgado, no qual penetram as células epiteliais, e por endodiogenia ou endopoligenia, se reproduzem sucessivas vezes esgotando e destruindo as células hospedeiras, as formas parasitárias extracelulares vão invadir outras células do epitélio repetindo várias fases assexuadas (TENTER et al., 2000; NEVES et al., 2005).

Algumas formas, biologicamente diferenciadas, dão origem à fase sexuada. No interior das células parasitadas, diferenciam-se em macro e microgametócitos; formam-se os gametas ocorrendo a fecundação do macrogameta pelo microgameta. A evolução do zigoto conduz a formação do oocisto, cuja maturação se fará se completa em torno de cinco dias (ARAÚJO et al., 2003).

2.4 Epidemiologia

A toxoplasmose é uma enfermidade que possui distribuição mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, o qual acomete o homem, animais domésticos e selvagens, afetando principalmente o sistema nervoso central, e ocasionalmente o sistema reprodutor, músculos esqueléticos e órgãos viscerais desses animais. (DUBEY; BEATTIE, 1988; HILL et al., 2005).

Dos animais susceptíveis os felinos exercem um importante papel nesta na transmissão desta zoonose, considerando que esses animais estão relacionados com a produção, liberação de oocistos e perpetuação da doença, sendo o gato (*Felis catus domesticus*) o seu principal transmissor. (GARCIA et al., 1999).

Os hospedeiros susceptíveis podem se infectar com o *T. gondii* por meio das seguintes formas primárias: transmissão transplacentária, ingestão de tecidos de animais contendo cistos

infectantes e ingestão de água e alimentos contaminados com fezes de gatos contendo oocistos esporulados (DUBEY; BEATTIE, 1988).

2.5 Aspectos epidemiológicos da toxoplasmose na saúde pública

A toxoplasmose pode causar diversos prejuízos à saúde humana e animal. Estima-se que mais de um terço da população humana tenha sido exposta a esse agente, vários estudos realizados no Brasil reafirmam uma alta prevalência de indivíduo sororreagente, oferecendo bastante preocupação à saúde pública, pois a infecção crônica por *T. gondii* pode ser um fator de risco para desenvolvimento de esquizofrenia e outros distúrbios do comportamento (FOCACCIA et al., 1982; DURLACH et al., 2008; YOLKEN E TORREY, 2008).

O maior problema ocorre quando a mulher grávida é exposta pela primeira vez, pois não possuirá anticorpos maternos, podendo causar abortos, natimortos, ou lesão do sistema nervoso do feto. (URQUHART, et al., 1998)

A incidência de transmissão e a gravidade da toxoplasmose congênita irão depender da idade gestacional em que ocorre a infecção. A gravidade da doença no feto é inversamente proporcional à idade gestacional, ou seja, no primeiro trimestre da gestação as lesões são mais graves que nos últimos meses. Porém, a taxa de transmissão da mãe para o feto é menor no início da gravidez, variando entre 6% no início e 80% no último mês (PINARD; LESLIE, 2003).

Apesar de não ser possível determinar por meios de métodos se um hospedeiro se infectou pela ingestão de cistos teciduais ou de oocistos esporulados (DUBEY, 1994a; DUBEY, 2001), estudos apontam que a principal via de transmissão da toxoplasmose para humanos é pelo consumo de alimento contaminado, especialmente carne mal cozida contendo bradizoítos (COOK, et al., 2000).

No Brasil, este protozoário encontra-se amplamente difundido, apresentando um dos mais altos índices de soroprevalência em humanos do mundo (GILBERT et al., 2008; DUBEY, 2010).

2.6 Aspectos da infecção pelo *T. gondii* nos animais domésticos

Nos animais de produção principalmente suínos, ovinos e caprinos, o *T. gondii* causa danos consideráveis, principalmente reprodutivos. Ocasionalmente elevadas perdas econômicas aos criadores (OLIVEIRA; COSTA; SABATINI, 2001).

A infecção por *T. gondii* em suínos, ovinos e caprinos está relacionada com problemas reprodutivos, como morte embrionária, morte fetal, reabsorção fetal, feto mumificado, natimortalidade, abortos ou nascimento de animais debilitados, causando aos criadores grande prejuízo econômico. A infecção nesses animais causam implicações na saúde, pois estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão de cistos em carne crua ou mal cozida é uma importante fonte de transmissão para a população humana (DUBEY, 1990; FIALHO; ARAÚJO, 2002).

Em cães a doença se manifesta por pneumonia, sintomas nervosos, ataxia e diarreia. Frequentemente a toxoplasmose respiratória apresenta-se associada com cinomose, devido à imunossupressão causada pelo vírus, facilitando a proliferação de *T. gondii* (DUBEY et al., 2003).

Apesar de os gatos se infectarem com frequência, raramente ocorre a forma clínica, embora tenham sido registrados enterite, linfonodos mesentéricos aumentados, pneumonia, alterações degenerativas no SNC e encefalite em infecções experimentais (SIMPSON et al., 2005).

A toxoplasmose deve estar na lista dos diagnósticos diferenciais para gatos com uveíte anterior ou posterior, lesões cutâneas, febre, hiperestesia muscular, miocardite com arritmias, perda de peso, anorexia, convulsões, ataxia, icterícia, diarreia, ou pancreatite (NELSON; COUTO, 2015).

Os bovinos são considerados relativamente resistentes à infecção pelo *T. gondii*. A presença de cistos musculatura desses animais são menos frequente, e persistem por menos tempo em relação a outros animais (DUBEY, 1994b).

Das espécies de animais que apresentam toxoplasmose, os equinos parecem ser mais resistentes à infecção pelo parasita e podem apresentar alguns sintomas caracterizados por hiperirritabilidade, incoordenação motora, distúrbios oculares e aborto (TURNER; SAVVA, 1991).

2.7 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo *T. gondii* em galinhas

A toxoplasmose em galinhas cursa predominantemente na forma subclínica, apresentando pouca importância clínica para essa espécie. Entretanto, Dubey et al. (2007a) relataram um surto de toxoplasmose clínica em galinhas de postura e gansos numa fazenda de Illinois (USA). Os sinais clínicos relatados nesse episódio foram de alterações neurológicas

manifestando-se por torcicolo, incapacidade de se manter em estação e decúbito lateral. As galinhas de criações domésticas são consideradas importantes na epidemiologia desta doença, pois são fontes de transmissão tanto para o homem quanto para o gato, favorecendo, através deste último, a disseminação da doença pela eliminação de oocistos no meio ambiente (DUBEY, 2009). Além disso, devido ao hábito alimentar de ciscar no solo, a ocorrência de *T. gondii* em galinhas caipiras tem sido largamente utilizada como indicador da prevalência de oocistos de *T. gondii* no ambiente (DUBEY et al., 2006).

É importante o sorodiagnóstico entre animais de produção, por sinalizar a contaminação do espaço rural, uma vez que estes animais estão em contato direto com o meio ambiente por longos períodos (BONNA et al., 2006).

Galinhas alimentadas com oocistos de *T. gondii* podem albergar cepas virulentas do parasito em diferentes tecidos sem apresentar sinais clínicos de toxoplasmose (Dubey et al. 2002).

O hábito de geofagia faz com que a galinha facilmente se contamine com oocistos presentes no meio ambiente. Se galinhas, com sorologia negativa, são colocadas em um ambiente e se tornam soropositivas, isso indica a contaminação desse ambiente. Devido a esse fator, as galinhas, são utilizadas como “sentinelas” para detectar ambientes contaminados por oocistos do *Toxoplasma* (DUBEY et al., 2004b).

Estudos de soroprevalência apontam as galinhas de criação doméstica com alto índice de positividade para *T. gondii*. Dubey et al. (2007b) realizaram um estudo em galinhas provenientes do Pará e Rio Grande do Sul e verificaram 46,4% de animais soropositivos, assim como Oliveira et al. (2008) verificaram 53,3% de animais sororeagentes em todos os estados do nordeste, exceto a Paraíba, que não participou desse estudo.

2.8 Inoculação em camundongos

Dentre os animais utilizados para inoculação, citam-se hamsters, cobaias, camundongos e coelhos. Dentre esses, os camundongos são os de escolha por serem os mais susceptíveis a infecção por inoculação peritoneal, chegando a fornecer milhões de taquizoítos por mililitros no curto espaço de tempo de três dias (Amato Neto et al. 1995).

A inoculação em camundongos utiliza o sangue do paciente, de preferência a camada leucocitária, ou sedimento do centrifugado de líquido cefalorraquiano, líquido amniótico, lavado brônquico-alveolar, suspensões de triturados de biópsia ou de placenta, que são

inoculados via intraperitoneal ou subcutânea em camundongos isogênicos (REMINGTON et al., 2006).

2.9 Transmissão

A transmissão do *T. gondii* pode ocorrer através da via oral através ingestão de alimentos contaminados contendo oocistos e de carne crua ou mal passada contendo cistos, congênita ou transplacentária. Deve-se também considerar a transmissão por transfusão de sangue ou derivados, transplante de órgãos e acidentes laboratoriais com material biológico (KAWAZOE, 2005).

Em todos os países, grande parte da população humana e animal (mais 300 espécies de animais entre mamíferos e aves) apresenta parasitismo pelo *Toxoplasma gondii*. Em algumas regiões, 40 a 70% dos adultos apresentam-se positivos para toxoplasmose, em testes sorológicos (NEVES et al. 2005).

2.10 Diagnóstico

O diagnóstico clínico da toxoplasmose é bastante difícil, pois os casos agudos podem levar à morte ou evoluir para a forma crônica; esta pode se manifestar de forma assintomática ou se assemelhar a outras doenças, fazendo-se necessário o uso de técnicas laboratoriais para sua confirmação (SZPEITER, 2000).

Para o diagnóstico da toxoplasmose existem métodos diretos (PCR, bioensaio e imunohistoquímica) que visam à detecção direta dos parasitas em amostras biológicas. Os camundongos são extremamente susceptíveis à infecção por *T. gondii*, sendo muito utilizados para isolamento e caracterização do parasita (INNES, 1997). Os métodos indiretos são: teste do corante Sabin-Feldman, testes de aglutinação, ELISA e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), baseados na detecção de anticorpos contra o agente. A RIFI é considerada como padrão-ouro, ou seja, um teste de referência para a calibração e comparação com outros testes (BJORKMAN et al., 1999).

Para chegar-se a um diagnóstico, o resultado do teste sorológico deve ser avaliado associando com a presença de sinais clínicos da doença encontrados na toxoplasmose, exclusão de outras causas e resposta positiva ao tratamento (LAPPIN, 2004).

2.11 Tratamento

As drogas utilizadas no tratamento da toxoplasmose são: pirimetamina, sulfadiazina e ácido fólico. A associação de sulfas com trimetoprim, podem também ser usadas, apresentando a mesma efetividade quanto a sulfadiazina, sulfapirazina, sulfametazona e sulfamerazina, na dose de 50mg/ kg, a cada 24 horas durante duas semanas para humanos (DINIZ ; VAZ, 2003).

A clindamicina é o medicamento de escolha para o tratamento em cães e gatos, sendo utilizada na dose de 25-50mg/kg/dia, dividido em duas ou três doses, via oral ou intramuscular, por pelo menos duas semanas (SHERDING, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

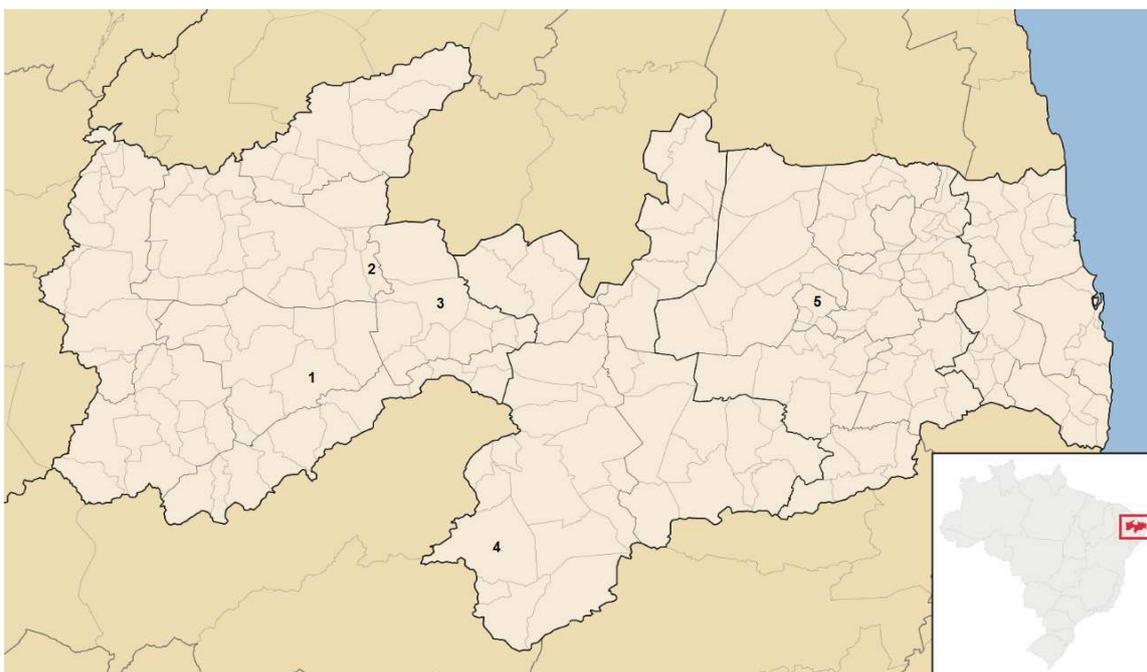
3.1 Caracterização da área

O Estado da Paraíba possui uma população estimada em 3.999.415 habitantes, distribuídos em 223 municípios e quatro mesorregiões, a saber: Zona da Mata, Agreste, Borborema e Sertão (IBGE, 2016), totalizando 90.583 estabelecimentos pecuários criadores de aves, com um efetivo de 10.647.748 (IBGE, 2015).

3.2 Procedência dos animais

Os isolados obtidos das aves foram provenientes de animais de residências dos municípios de Olho d' Água, Malta, Patos (Mesorregião do Sertão), Monteiro (Mesorregião da Borborema) e Esperança (Mesorregião do Agreste) (Figura 2).

Figura 2: Localização dos municípios Olho d' Água (1), Malta (2), Patos (3), Monteiro (4) e Esperança (5), Estado da Paraíba.



Fonte: Adaptado de ABREU (2013).

3.3 Local do experimento

O bioensaio para isolamento foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD) e Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos-PB.

3.4 Procedimento Ético

O presente trabalho foi encaminhado ao Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da UFCG, Campus de Patos e obteve autorização de execução sob nº de registro 170-2014, respeitando o disposto na Lei Federal 11.794 e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

3.5 Isolamentos de *T. gondii* em camundongos

3.5.1 Digestão péptica de tecidos

Os tecidos das galinhas (cérebro e coração) foram mantidos refrigerados até o resultado da RIFI. Os tecidos dos animais soropositivos foram cortados em pequenos pedaços, sendo removida a gordura e o tecido conectivo e utilizados para bioensaio em camundongo segundo protocolo de Dubey (1998). De cada órgão, a totalidade dos fragmentos foi utilizada.

O “pool” de tecidos foi triturado em gral e pistilo estéreis e homogeneizado com cinco volumes de NaCl 0,85% (salina), utilizando um homogeneizador de uso doméstico.

Ao material homogeneizado foi adicionado o mesmo volume de uma solução de pepsina ácida, pH 1,1-1,2 (pepsina, 2,6g; NaCl, 5,0g; HCL, 7,0mL; água destilada suficiente para 500mL de solução) preparada próximo ao uso e aquecida em banho-maria a 37°C. A mistura foi incubada em banho-maria sob agitação a 37°C por uma hora. Após incubação, a suspensão foi coada através de duas camadas de gaze, o coado transferido para cinco tubos cônicos de 50 mL e centrifugado a 1.200g por 10 minutos.

O sobrenadante foi desprezado e o sedimento de todos os tubos foram então neutralizados pela adição gradual de bicarbonato de sódio 1,2%, pH~8,3, recém-preparado (ao redor de 5mL por tubo). A neutralização era percebida visualmente por meio da mudança de cor do sedimento. Após homogeneização, o material era transferido para um único tubo cônico, completando o volume para 50mL com salina e centrifugado a 1,200g por 10 minutos.

Novamente o sobrenadante foi desprezado e ao sedimento foi adicionado de igual volume de uma solução salina contendo 2.000U de penicilina e 200mcg de estreptomicina por mililitro. Imediatamente, a amostra foi inoculada em um grupo de três camundongos, na quantidade de 1,0mL por animal por via subcutânea (Figura 4).

Figura 3: Inoculação da amostra em camundongo Swiss.



Fonte: Arquivo pessoal (2015).

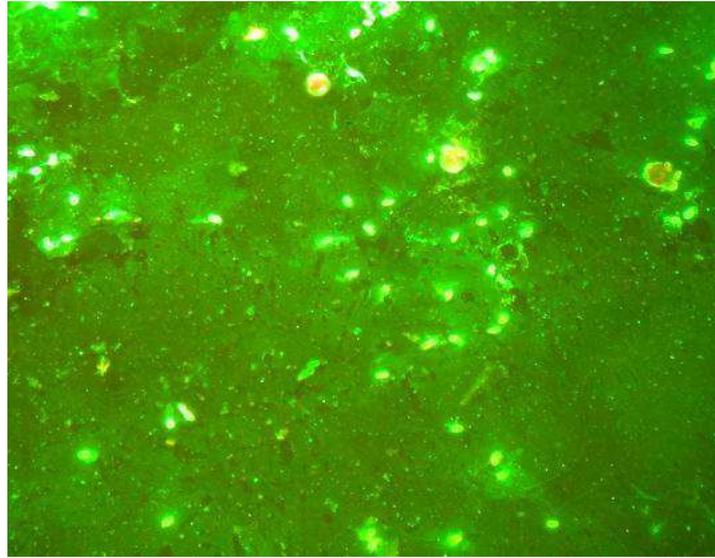
3.5.2 Bioensaio em camundongos

Foram utilizados camundongos Swiss, albinos com idade em torno de dois meses, provenientes do biotério do Laboratório de Tecnologia e Farmacologia (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Cada grupo foi constituído de três camundongos, alojados na mesma caixa, marcados individualmente em diferentes locais do corpo com ácido pícrico na sequência das aplicações: 1º- cabeça; 2º- cauda; 3º- barriga. Os animais eram observados duas vezes ao dia durante os primeiros 30 dias e após este período, os mesmos são observados uma vez ao dia.

Os animais que vieram a óbito foram examinados para pesquisa de *T. gondii* nos tecidos, como descrito previamente por Dubey e Beattie (1988). Impressões de fragmentos de pulmão e cérebro dos animais são examinados sob microscopia de luz, entre lâmina e lamínula, para pesquisa de estágios do parasita (taquizoítos e/ou cistos).

Os camundongos que sobrevivem até seis semanas pós-inoculação (p .i.) são examinados sorologicamente para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, por meio da RIFI (Fig. 5), sendo o ponto de corte 1:16, utilizando 10 µL do soro a ser testado e 150 µL de PBS.

Figura 4- Reação de Imunofluorescência direta para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*.



Fonte: Feitosa (2015).

Os animais soropositivos permaneceram no experimento até dois meses p. i, quando então foram sacrificados e examinados para pesquisa de *T. gondii*; os soronegativos foram sacrificados após o resultado da sorologia e submetidos ao mesmo exame. O sacrifício foi feito por meio de deslocamento cervical. Os camundongos foram considerados positivos quando foram observados cistos em seus tecidos (Dubey et al., 2002).

3.5 Análise Estatística

As análises de correlações simples entre a frequência de isolados nos camundongos (percentagem de isolamentos dos camundongos do mesmo grupo) e os títulos de anticorpos anti-*T. gondii* das galinhas foram realizadas pelo programa Excel (Microsoft Office Excel, versão 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os títulos de anticorpos anti *T. gondii* variaram de 1:16 a 1:4096, sendo mais frequente a diluição 1:64 (44/152). Dos animais (galinhas) soropositivos, 71 foram submetidos ao bioensaio em camundongos Swiss para o isolamento, obtendo-se um total de 33 animais isolados. Observou-se que a porcentagem de isolamento aumentava à medida que os títulos de anticorpos eram maiores, havendo uma correlação positiva entre título e isolamento, a partir da titulação 1:512, verificou-se o isolamento em mais de 50% dos animais, chegando a 100% de isolamento nos animais que tinham títulos superiores a 2048 (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de isolamento do *Toxoplasma gondii* por bioensaio em camundongos de galinhas soropositivas do estado da Paraíba.

Títulos de anticorpos	Número de galinhas soropositivas	Número de animais (galinhas)		
		Bioensaio	Isolados de <i>T gondii</i>	%
16	19	7	2	28.6
32	24	6	2	33.3
64	44	19	8	42,1
128	26	15	6	40
256	17	12	6	50
512	10	6	4	66.6
1024	7	3	2	66.6
2048	4	2	2	100
4096	1	1	1	100
Total	152	71	33	46.8

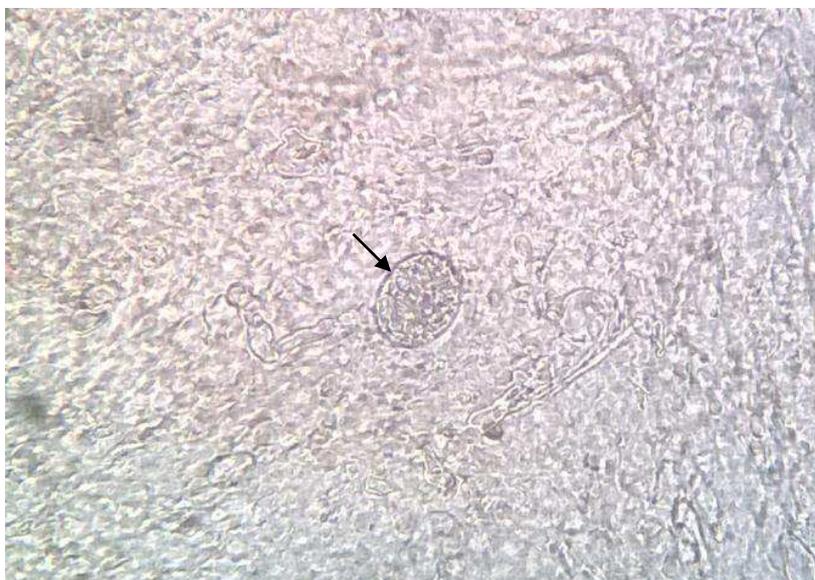
Resultados inferiores de isolados foram observados por Gonçalves (2010) em um estudo com galinhas caipiras no estado da Bahia, o qual observou o isolamento de cinco animais a partir de 14 animais submetidos ao bioensaio.

A virulência dos isolados depende de diversos fatores, dentre eles a quantidade de cistos viáveis contidos no material inoculado, linhagem do camundongo utilizado no experimento e a via de inoculação, além da via intraperitoneal, fatores esses que podem vir a aumentar a virulência do *T. gondii* (Dubey et al. 2002).

Em um estudo realizado por Dubey (2007) utilizando separadamente o cérebro, coração e músculos da perna de 11 galinhas soropositivas, verificou-se que os cistos no coração são mais frequentes que no cérebro, o coração é o órgão mais parasitado pelo protozoário, mas os autores reforçam a importância de se utilizar macerados de diferentes órgãos, isolados ou misturados, para aumentar a sensibilidade do isolamento.

Dos 33 isolados, 27 (81.8%) foram letais para pelo menos um dos camundongos inoculados, estes vieram a óbito entre os dias 16 e 45 p. i. por toxoplasmose aguda confirmada através da presença do parasita nos tecidos dos animais (Figura 6), 21 (63.6%) dos isolados foram letais para todos os animais inoculados e em seis (18.2%) isolados todos os camundongos resistiram até os 42 dias p. i. quando então foi realizada a sorologia e os positivos foram eutanasiados no dia 60 p. i., com detecção do parasita em seus tecidos.

Figura 5: cisto contendo bradizoítos isolado do cérebro de camundongo (seta), aumento 400 microscópio óptico comum.



Fonte : arquivo pessoal, (2015).

Esses resultados foram superiores aos obtidos por Feitosa et al. (2014) em um estudo realizado em suínos no estado da Paraíba, que observaram uma letalidade em nove (64,2%) para pelo menos um dos camundongos inoculados, no mesmo trabalho observaram que apenas 4 dos 14 isolados foram capaz de matar todos os camundongos.

Alguns trabalhos relatam alto índice de isolamento de *T. gondii* dos tecidos de galinhas caipiras. Dubey et al. (2006) conseguiram isolar este protozoário de 72,7% de animais soropositivos em um estudo conduzido no estado do Amazonas e Beltrame et al. (2012) também obtiveram um índice de isolamento alto, de 75%. Isso demonstra que os animais tinham cistos viáveis capazes de infectar humanos, assim como outros animais, funcionando como uma possível fonte de infecção para os indivíduos desses locais.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que os isolados das galinhas domésticas provenientes dos municípios de Olho d' Água, Malta, Patos, Monteiro e Esperança apresentaram alta prevalência de isolados de *T. gondii*, possuindo esses isolados uma alta virulência, visto que, 81.8% foram letais para pelo menos um dos camundongos inoculados, o que indica a possibilidade tanto de infecção humana como também de animais pertencentes à região estudada, podendo oferecer riscos para ambos devido à alta contaminação ambiental. As galinhas com títulos superiores a 1:256 devem ser priorizados para a utilização em bioensaio, pois as possibilidades de isolamento do parasita a partir dessa titulação foi superior à 50%.

REFERÊNCIAS

- AMATO NETO, V.; SERVOLO, M. E. A.; LEVI, G. C.; SEIXAS, D. M. I.; Toxoplasmose. 4.ed. São Paulo: Sarvier, 1995, 250 p.
- ARAÚJO, F. P.; SILVA, N. R. S.; OLICHESKI, A.T.; BECK, C.; RODRIGUES, R. J. D.; FIALHO, C.G. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. **Acta Scient Vet**, Porto Alegre, v.31, n.2, p. 89-92, 2003.
- BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, n.3, p. 607-623, 2000.
- BELTRAME, M. A. V.; PENA, H. F. J. ; XTON, N. C.; LINO, A. J. B.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J .P.; PEREIRA, F. E. L. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Espírito Santo state, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 188, p. 225-230, 2012.
- BONNA I. C. F; FIGUEIREDO F. B, COSTA T.; VICENTE R. T.; SANTIAGO C. A. D.; NICOLAU J. L.; NEVES L. B.; MILLAR P. R.; SOBREIRO L. G.; AMENDOEIRA M. R. R. Estudo Soroepidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos para abate em região rural do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, p. 186-189, 2006.
- BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1497-1507, 1999.
- BOWMAN, D. D. Georgis. Parasitologia veterinária/ Dwight D. Bowman [e colaboradores]; [tradução de Adriana Pittella Sudré]. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, cap. 3, p. 81-109.
- COOK, A. J.; GILBERT, R. E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P. A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A. E., DUNN, D. T. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant woman: European multicentre case–control study. **British Medical Journal**, v. 321, p.142-147, 2000.
- DINIZ, E. M. A.; VAZ, F. A. C. Qual é a recomendação atual para o tratamento da toxoplasmose congênita. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 49, p. 10-10, 2003.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton. Florida: CRC Press, 1988, 220p.
- DUBEY, J. P. et al. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **Journal of Parasitology**, v. 76, p. 201-204, 1990.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 206, p.1963-1968, 1994a.
- DUBEY, J. P.; LIN, T. L. Acute toxoplasmosis in gray fox (*Urocyon cenereargenteus*). **Veterinary Parasitology**, v. 51, n. 3-4, p. 321-325, 1994b.

DUBEY, J. P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. **Veterinary Parasitology**, v. 74, p. 75–77, 1998.

DUBEY, J. P. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 215–219, 2001.

DUBEY, J. P.; GRAHAM, D. H.; BLACKSTON, C. R.; LEHMANN, T.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M. A.; NISHI, S. M.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; HILL, D. E.; THULLIEZ, P. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: Unexpected findings. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 99–105, 2002.

DUBEY, J. P.; ROSS, A. D.; FRITZ, D. Clinical *Toxoplasma gondii*, *Hammondia heydorni*, and *Sarcocystis* spp. infections in dogs. **Parassitologia**, v. 45, p. 141-146, 2003.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis a water borne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v.126, n.1-2, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. P.; SALANT, H.; SREEKUMAR, C.; DAHL, E.; VIANNA, M. C.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C.; SPIRA, D.; HAMBURGER, J.; LEHMANN, T. V. High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. **Vet Parasitology**, 2004 b 121(3-4): 317-322.

DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M., VIANNA, M. C., MARCET, P. L., LEHMANN, T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 36-40, 2006.

DUBEY J. P.; WEBB, D. M.; SUNDAR, N.; VELMURUGAN, G. V.; BANDINI, L. A.; KWOK, O. C. H., SU, C. Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*). **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 207-212, 2007a.

DUBEY, J. P.; SUNDAR, N.; GENNARI, S. M.; MINERVINO, A. H.; FARIAS, N. A.; RUAS, J. L.; DOS SANTOS, T. R.; CAVALCANTE, G. T.; KWOK, O. C.; SU, C. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p, 182–188, 2007b.

DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, Clinical Disease, Diagnosis and Public Health Significance. **Zoonoses Public Health**, v. 57, p. 60-73, 2009.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2 ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. 313p.

DURLACH, R. D. et al. **Consenso Argentino de toxoplasmosis congenital**. Medicina (Buenos Aires), v.68, p.75- 87, 2008.

- FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R.; MELO, L. R. B.; *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in slaughtered pigs from Northeast, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Patos, n. 202, p.305-309, 6 mar. 2014.
- FIALHO, C. G.; ARAÚJO, F. A. P. Comparação entre os testes de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de suínos. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 30, n. 3, p. 185-189, 2002.
- FOCACCIA, R.; HYAKUTAKE, S.; SILICIANO, S. F.; BAZONE, J. R. C.; FELDMAN, C.; MAZZA C. C. VERO NESI, R. Prevalência de toxoplasmose- infecção em comunidades ilhadas do litoral sul do estado de São Paulo . **REVISTA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE SÃO PAULO**, v. 37, p. 164- 166, 1992.
- GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C.; KOBILKA, E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana em uma área rural em Jaquapitã, Paraná – Brasil. **Jornal Americano de Revista Panamericana de Saúde Pública**, v. 6, p. 157-163, 1999.
- GILBERT, R. E.; FREEMAN, K.; LAGO, E. G.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M.; TAN, H. K.; WALLON, M.; BUFFOLANO, W.; STANFORD, M. R.; PETERSEN, E., European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (EMSCOT). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 2, p. 277, 2008.
- GONÇALVES, I. N. **Investigação Sorológica, Molecular e Isolamento De Coccídios Toxoplasmatíneos Em Galinhas (*Gallus domesticus*)**. 2010. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.
- HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**. v. 6, p. 41-61, 2005.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Sistema IBGE de Recuperação de Dados - SIDRA. 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=22&u1=1&u2=1&u3>>. Acessado em: 19 de outubro de 2016.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estados- Paraíba. 2016. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pb>>. Acessado em: 15 de outubro de 2016.
- INNES, E.A. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. **Comparative Immunology and Microbiology Infection Diseases**, v.20, n.2, p. 131-138, 1997.
- KASPER, L. H.; BOOTHROYD, J. C. *Toxoplasma gondii* and toxoplasmosis . In: WARREN, K. S. **Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections**. 3 ed. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1993. 610p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 163-172.

LAPPIN, M. R. Infecções Protozoárias e Mistas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. **C.Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5 ed. Vol1. Rio de Janeiro: Guanabara, p.433-435, 2004.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 1474p.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494p

OLIVEIRA, L. N.; COSTA JUNIOR, L. M.; DE MELO, C.; RAMOS SILVA, J.; BEVILAQUA, C. M.; AZEVEDO, S.; MURADIAN, V.; ARAUJO, D.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the northeast region of Brazil, **International Journal for Parasitology**, v. 95, p. 235-237, 2008.

OLIVEIRA, F. C. R. de; COSTA, A. J. da; SABATINI, G. A. Clínica e hematologia de *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bubalus bubalis* inoculados com oocistos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31 n.4, p.621-626, 2001.

PINARD, J. A.; LESLIE, N. S.; IRVINE, P. J. Maternal serologic screening for toxoplasmosis. **Journal of Midwifery & Womens Health**, v.48, n.5, p.308-316, 2003.

REMINTONG, J. S.; KRAHENBUHL J. L. Immunology of *Toxoplasma gondii* In: Nahmias A. J, Reilly RI. *Comprehensive immunology*. New York: Plenum Press, 1982, p. 327-371.

SCHNELL, M. **Toxoplasmose felina - Revisão de literatura e soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em felinos domésticos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS**. 2011. 55 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

SHERDING, R. G. Toxoplasmose, Neosporose e outras Infecções Protozoarianas Multissêmicas In: BIRCHARD S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders Clínica de pequenos animais**. 2 ed, São Paulo – SP, Roca Ltda, pg 161-67, 2003.

SIMPSON, K. E.; DEVINE, B. C.; GUNN-MOORE, D. Suspected toxoplasma-associated myocarditis in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 7, p. 203-208, 2005.

SZPEITER, N. Considerações sobre o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose. **Rev. Laes e Haes**, v.126, p.182-200, 2000

TAYLOR, M. A; COOP, R. L; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. -. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2010.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2ª Ed. Rio de Janeiro/RJ: Editora Guanabara Koogan S.A., 1998. p.204-207.

TENTER, A. M; HECKETROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii* from animals to humans. **Internation Journal for Parasitology**. Lawrence, v. 30, n. 12-13, p. 1217. 2000

TURNER, C. B.; SAVVA, D. Detection of *Toxoplasma gondii* in equine eyes. *Vet. Rec.*, v.129, p.128, 1991.

YOLKEN, R. H., TORREY, E.F. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. **Molecular Psychiatry**. v. 13, p. 470–479, 2008.