UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SOROPREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UVV-ES

ANA CAROLINE MOSCHEN BATISTA

VILA VELHA, ES

AGOSTO/2022

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SOROPREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UVV-ES

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do grau de Mestre (a) em Ciência Animal.

ANA CAROLINE MOSCHEN BATISTA

VILA VELHA, ES

AGOSTO/2022

Catalogação na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

B333e Batista, Ana Caroline Moschen.
Soroprevalência da toxoplasmose em cães atendidos no hospital veterinário da UVV-ES / Ana Caroline Moschen Batista. – 2022.
.
38 f. : il.

Orientador: Hélio Langoni.
Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, 2022.
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. 2. Toxoplasmose. 3. Zoonoses. 4. Cães. I. Loureito, Barbara. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.89

ANA CAROLINE MOSCHEN BATISTA

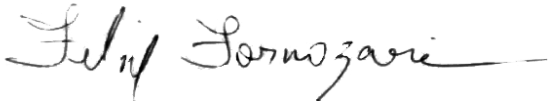
SOROPREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UVV-ES

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do grau de Mestre (a) em Ciência Animal.

Aprovada em 31 de agosto de 2022.

Banca Examinadora:

Dr. Fábio Ribeiro Braga – (UVV)



Dr. Felipe Fornazari – (UNESP – BOTUCATU - SP)

Dr. Hélio Langoni – (UVV)
Orientador

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em nossas vidas, autor de nossos destinos, nosso guia, socorro presente na hora da angústia. Sou eternamente grata aos meus pais, que fizeram o possível e o impossível para realização deste sonho, e ao meu tio Roque, que sempre foi muito solicito e sempre foi presente durante todo o processo, que sem ele, nada disso seria possível.

AGRADECIMENTO

Agradeço ao meu querido professor e orientador Hélio Langoni, por sua orientação, paciência e dedicação a este trabalho. Ao professor Fábio Braga, pela sua imensa preocupação e por ter sido sempre tão presente e solicito. A professora Emy, responsável pelo laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da UVV, que me acolheu e me ajudou de inúmeras formas e maneiras a realizar este trabalho. Aos Residentes da área de Zoonoses e Saúde Pública do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia -FMVZ-UNESP, Campus Botucatu - SP, que me ajudaram sem medir esforços a realizar a parte prática do experimento e por terem me acolhido de forma tão singela e humilde. A minha família que me proporcionou e que torceram por mim neste período, e que são de extrema importância. Aos amigos e colegas, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas.

“Você nunca sabe a força que tem até que a sua única alternativa é ser forte.”

Johnny Depp.

SUMÁRIO

RESUMO..... **9**

ABSTRACT.....**10**

INTRODUÇÃO.....**11**

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **13**
2.1 O PARASITO .....**Erro! Indicador não definido.**3
2.2 CICLO DE VIDA.....**Erro! Indicador não definido.**6
2.3 TOXOPLASMOSE EM FELINOS 16
2.4 TOXOPLASMOSE EM CÃES.....17
2.5 TOXOPLASMOSE EM HUMANOS.....18
2.6 TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO 18

3 OBJETIVOS.....**20**
3.1 OBJETIVO GERAL 20
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO 20

4 HIPOTESE .....**2**Erro! Indicador não definido.

5 MATERIAL E METODO .....Erro! Indicador não definido.

6 RESULTADOS **29**

7 DISCUSSÃO **31**

CONSIDERAÇÕES FINAIS **34**

REFERÊNCIAS.....**35**

RESUMO

BATISTA MOSCHEN, ANA CAROLINE, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, agosto de 2022. **Soroprevalência da Toxoplasmose em Cães Atendidos no Hospital Veterinário da UVV-ES.** Orientador: Hélio Langoni.

A toxoplasmose é uma das coccidioses mais importantes e tem ampla distribuição geográfica, facilitando assim o seu contato com o ser humano e com os animais. Por conta de ser uma zoonose e ter ampla distribuição, os animais também acabam tendo um maior contato com o parasito, estreitando os laços do ciclo homem-parasito. Os felinos tem um papel importante no ciclo de vida dessa Zoonose, porém o cão vem aparecendo como o sentinela desta enfermidade, mas, o que todos não sabem, é que o cão apenas age como um agente condutor, não causando mal nenhum para a população, mostrando assim o seu valor, que é de sentinela desta doença. O objetivo do presente estudo foi realizar a pesquisa sorológica em cães, para anticorpos da classe IgG anti *Toxoplasma gondii* atendidos no Hospital Veterinário da UVV, no período de janeiro de 2022 a março de 2022, a partir de amostras de soro pertencentes ao banco de soros estocadas no Laboratório Clínico Veterinário. Foram avaliados os títulos de anticorpos igG obtidos pela reação de imunofluorescência indireta-RIFI, comparando-se os resultados obtidos de acordo com a idade, raça e sexo dos animais. Das150 amostras avaliadas, 16 (10,66%) foram reagentes com títulos variáveis entre 16 e 256 UI. Quanto ao sexo 9 (56,25%) eram femeas, sendo sete (77,7%) sem raca definida (SRD) e duas da raca Poodle, e sete machos, dois (28,57%) SRD, e outros cinco de diferentes raças. Quanto a idade, variou de três a 15 anos, sendo que os animais com idades entre 10 a 12 anos, apresentaram titulação mais elevada, de 256 UI. Com base nos resultados obtidos pode-se concluir pela dispersão do *T. gondii*, na região, e os riscos de transmissão da toxoplasmose para a população local.

Palavras chaves: cães sentinela; toxoplasmose; zoonose.

ABSTRACT

BATISTA MOSCHEN, ANA CAROLINE, M.Sc, University of Vila Velha – ES, August 2022. **Seroprevalence of Toxoplasmosis in Dogs Attended at the Veterinary Hospital of UVV-ES**. Advisor: Hélio Langoni.

Toxoplasmosis is one of the most important coccidiosis and has a wide geographic distribution, thus facilitating contact with humans and animals. Because it is a zoonosis and has a wide distribution, animals also end up having greater contact with the parasite, strengthening the bonds of the human-parasite cycle. The felines play an important role in the life cycle of this zoonosis, but the dog has been appearing as the sentinel of this disease, but what everyone does not know is that the dog only acts as a conductive agent, causing no harm to the population, thus showing its value, which is the sentinel of this disease. The objective of the present study was to carry out serological research in dogs for IgG class antibodies against Toxoplasma gondii treated at the Veterinary Hospital of UVV, from January 2022 to March 2022, from serum samples belonging to the serum bank. stored in the Veterinary Clinical Laboratory. The titers of IgG antibodies obtained by the indirect immunofluorescence reaction-IFA were evaluated, comparing the results obtained according to the age, race and sex of the animals. Of the 150 samples evaluated, 16 (10.66%) were reagents with titers ranging from 16 to 256 IU. As for sex, 9 (56.25%) were females, seven (77.7%) were not defined breed (SRD) and two were Poodle, and seven males, two (28.57%) SRD, and another five of different races. As for age, it ranged from three to 15 years, and animals aged between 10 and 12 years had a higher titer, 256 IU. Based on the results obtained, it can be concluded that T. gondii is spread in the region and the risks of transmission of toxoplasmosis to the local population.

Keywords: sentinel dogs; toxoplasmosis; zoonosis.

INTRODUÇÃO

A urbanização cada vez mais crescente, tem transformado os hábitos das pessoas fazendo com que nos domicílios se conviva com mais animais de companhia. Isso implica na prática adequada da guarda responsável, mas sabe-se que nem sempre essas regras são respeitadas, principalmente com relação ao manejo zoo-sanitário dos animais, possibilitando a ocorrência de zoonoses, uma vez que esses animais podem transmitir agentes infecciosos de caráter zoonótico para humanos. Outro aspecto a ser considerado é o abandono de animais, aumentando a população de cães errantes nas cidades, o que contribui novamente para o aparecimento das zoonoses (SANTANA e OLIVEIRA, 2006).

Das coccidioses, a toxoplasmose é uma das mais importantes pelo caráter zoonótico, já que os animais servem de fonte direta ou indireta de infecção para o ser humano, e também acarreta prejuízos nos animais de produção, por causar aborto e outros problemas reprodutivos, principalmente em suínos e ovinos (MOURA et al.; 2009). Destaca-se desta forma a importância da toxoplasmose por interferir nos aspectos produtivos, nos animais de interesse zootécnico. Enfatiza-se também os aspectos de saúde única, relacionados a esta enfermidade por envolver a saúde do ser humano, dos animais e a ambiental.

A toxoplasmose é uma doença de distribuição mundial ocasionada pelo protozoário coccídeo intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii* (DE MOURA et al., 2015). O ciclo de vida do parasita se alterna entre os hospedeiros intermediários que podem ser mamíferos ou aves, e os hospedeiros definitivos são os felídeos. (TENTER e JOHNSON., 1997). Acredita-se que um terço da população mundial esteja infectada, a partir do contato prévio com o agente, pelas várias possibilidades de contaminação, sejam diretas ou indiretas.

Estudos epidemiológicos na espécie canina demonstraram que este parasito é difundido nesta população, entretanto, as manifestações clínicas da doença podem ser confundidas com outras, dificultando o seu diagnóstico, principalmente por ser uma patologia oportunista e estar associada a outras concomitantemente. O convívio interespecífico íntimo e crescente vem exigindo da medicina veterinária mais estudos e controle das doenças com caráter zoonótico de cães (LEAL e COELHO, 2014). Salienta-se que os cães são considerados animais sentinela para a infecção, sendo

utilizados em inquéritos soroepidemiológicos para conhecimento do grau de dispersão do protozoário no meio ambiente (CAMOSSI et al. 2008).

Desta forma, levando-se em consideração o contato muito próximo dos cães com os seres humanos, e da população crescente de felinos nos domicílios, ressalta a importância de ser estudada a participação dos cães na cadeia epidemiológica de transmissão da toxoplasmose, uma vez que eles são importantes hospedeiros intermediários. Sabe-se que esta espécie animal apresenta formas infectantes do parasita na musculatura – os bradizoítas, entretanto, não temos no país, o hábito da ingestão de carne canina. Por outro lado, os cães podem conter no seu pelame, oocistos de *T. gondii,* pelo habito de xenosmofilia, ou seja, rolarem na areia, que pode conter oocistos esporulados, eliminados pelo gato, hospedeiro definitivo do agente. O ser humano, principalmente crianças ao brincarem com o animal, podem contaminar-se e desenvolver a doença.

Considerando-se os aspectos abordados, e a importância da toxoplasmose como zoonose, e o fato de o cão ser considerado animal sentinela para a infecção, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento da soroprevalência da toxoplasmose em cães atendidos no Hospital Veterinário da UVV, para se avaliar a dispersão do agente no meio ambiente, principalmente nos arredores onde vivem os cães avaliados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O PARASITO

O *Toxoplasma gondii* foi descoberto por Nicolle e Manceaux em 1908 na Tunisia, encontrando o parasito em um roedor (*Ctenodactylus gondii*), identificando-o como *Leishmania gondii*. Concomitantemente, Alphonso Splendore, no Brasil, estudando a morte de coelhos com paralisia, acabou encontrando corpúsculos parasitários císticos, que ao serem inoculados em cães, desenvolviam a doença. Este parasita recebeu o nome de *Toxoplasma coniculi* (MEIRA, 2010). A descoberta do parasito em dois continentes e em duas espécies diferentes, quase que concomitantemente, possibilitou observar a ampla distribuição geográfica e a variedade de hospedeiros do novo protozoário no reino animal (AMATO NETO et al.,1995).

No ano de 1909, Nicolle e Manceaux perceberam que se tratava de um novo protozoário e trocaram o nome para toxoplasma, do grego “toxon”, que significa arco, o que faz menção a forma do parasito (BOA SORTE, et al., 2012). Em 1937 Wolf e Cowen reconheceram o *T. gondii* como agente de encefalite em recém nascidos, fazendo com que a toxoplasmose ganhasse impacto na medicina. Dois anos após, foi retratado um caso fatal de uma lactante com encefalite granulomatosa. Estes autores efetuaram a primeira transmissão da toxoplasmose humana para animais (ROCHA, 2009).

Em 1965 formas do parasito foram encontradas nas fezes de gatos por Hutchison, e o ciclo biológico foi determinado por Frenkel, Dubey e Miller em 1970, nos EUA. Assim foi identificado os estágios sexuais do *T. gondii* no intestino delgado de gatos, e a presença de oocistos nas fezes, tendo se confirmado assim, o gato como hospedeiro definitivo (SAKATA, 2010).

O *T. gondii* pertence ao reino Protista, subreino Protozoa, filo Apicomplexa, classe Sporozoea, subclasse Coccidea, ordem Eucocciidida, subordem Eimeriina, família Sarcocystidea, subfamília Toxoplasmatinae, gênero Toxoplasma, espécie *T. gondii* (MEIRELES, 2001). Um protozoário intracelular obrigatório, o que significa que ele precisa de uma célula para sobreviver (KOCHANOWSKY E KOSHY 2018). Pode

ser encontrado em muitos tecidos e células, e em líquidos orgânicos, como leite (colostro), saliva, líquido peritoneal, linfa, urina e sêmen (BRESCIANI et al. 2001; 2001; KAWAZOE., 2005; ARANTES et al., 2009).

As três formas relevantes evolutivas deste protozoário são: os taquizoítos, que representam a forma de multiplicação que ocorre na infecção aguda; bradizoítos, que se caracterizam por apresentar multiplicação lenta e são encontradas nas infecções crônicas ou assintomáticas e, por último os oocistos presentes nas fezes dos felídeos, pois decorrem do ciclo enteroepitelial na família felidae (ACHA e SZYFRES, 1987; DUBEY, 2008).

Entre as técnicas existentes utilizadas para o diagnóstico desta patologia, a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é evidenciada como o padrão ouro, podendo ser usada tanto na fase aguda (pesquisa de IgM) ou quanto na fase crônica (pesquisa de IgG) (CAMARGO, 1973; DUBEY et al., 1988; DUBEY, 2010).

2.1.1 TAQUIZOÍTOS

Frenkel em 1973 deu o nome a esta forma infectante do parasito por designar o estágio de rápida multiplicação. Possui forma de lua crescente e mede cerca de 4 a 9 µm de comprimento com extremidade posterior arredondada e anterior aguda. Sua forma de locomoção é por meio da flexão, ondulação e rotação, assim, propagam-se no organismo dos hospedeiros intermediários pelo sangue e linfa, replicando-se assexuadamente no interior das células por endodiogenia. O interesse epidemiológico desta forma infectante, é pelo fato deles poderem ser transmitidos por via transplacentária, sendo assim, um importante agravo para saúde pública (DUBEY, 2009).

2.1.2 BRADIZOÍTOS

Denominado também por Frenkel no ano de 1973. O termo “bradi” significa lento, organismo que se multiplica lentamente no interior de um cisto tecidual. Após adentrarem a célula hospedeira, evoluem de forma mais lentamente, formando os

bradizoítos que originarão os cistos (MONTOYA e LIESENFELD, 2004). Cada cisto possui centenas a milhares de bradizoítos e medem cerca de 10 a 100 µm de diâmetro podendo se desenvolver em diversos órgãos como: pulmão, fígado, rins, porém, são predominantes nas musculaturas cardíaca e esquelética e também em tecido nervoso, como cérebro e olhos. Não é totalmente esclarecido o que ocorre com os cistos teciduais, mas acredita-se que possam se romper durante a vida, liberando bradizoítos que podem ser destruídos pelo sistema imune ou conseguem formar novos cistos (DUBEY, 2009). Este aspecto deve ser considerado nos casos de imunossupressão por vários motivos, mas principalmente nos indivíduos convivendo com HIV/aids.

2.1.3 OOCISTOS

Os oocistos esporulados possuem seu formato subesférico ou elípticos medindo de 11 a 13 µm, já os não esporulados tem formas esféricas ou subesféricas, podendo medir de 10 a 12 µm de diâmetro (DUBEY et al., 1998). Os oocistos esporulados contem no seu interior dois esporocistos com quatro esporozoítos cada. Eles possuem uma morfologia bastante resistente as condições ambientais (TENTER et al., 2000; DUBEY, 2009). Os oocistos que são excretados possuem a sua forma não esporulada e, sendo assim, não tem potencial de infectar. Após a defecação, entre um a cinco dias e de acordo com as condições ambientais, ocorre a esporulação, assumindo a sua forma infectante, que contém o esporozoíto dentro do oocisto (DUBEY, 1994).

Em temperaturas de -20ºC na água, os oocistos são capazes de sobreviver por até 28 dias e, em temperaturas de 37ºC podem chegar até a 360 dias de sobrevivência (ALVES et al., 2009). Foi relatado por Martins (2003) que os oocistos são capazes de permanecer por até dois anos viáveis no ambiente, no entanto, Araújo et al. (2008) declaram que os oocistos esporulados podem permanecer até um ano viáveis no meio ambiente.

2.2 CICLO DE VIDA

O *Toxoplasma gondii* possui ciclo de vida heteróxeno facultativo, e as suas três formas infectantes são existentes apenas nos felinos, em especial, o gato doméstico, que são os principais hospedeiros definitivos desta zoonose. O parasito detém um ciclo de vida que se alterna entre um hospedeiro definitivo, onde se realiza a fase sexuada ou enteroepitelial (felídeos), e os hospedeiro intermediários, nos quais ocorre a fase assexuada do ciclo de vida (DUBEY, 2009).

Na fase sexuada o parasito é capaz de se replicar dentro de qualquer célula nucleada de mamíferos ou aves. Esta fase ocorre quando um felídeo consome oocistos ou cistos. Após a digestão, os esporozoítos ou bradizoítos adentram as células epiteliais do intestino delgado e depois da esquizogonia, acontece a diferenciação dos gametas, a fecundação e a formação de oocistos (DUBEY, 2009). Os felídeos eliminam em suas fezes os oocistos não esporulados que em condições ambientais favoráveis, como temperatura, umidade e oxigenação, se tornam esporulados, assumindo a sua forma infectante. A esporulação dos oocistos acontece no ambiente, dentre um a cinco dias após a liberação nas fezes (TENTER et al., 2000).

A fase assexuada tem início quando os hospedeiros intermediários ou felídeos ingerem oocistos ou cistos teciduais. No epitélio intestinal e nos nódulos linfáticos, o parasito passa de sua forma de esporozoítos ou bradizoítos para taquizoítos, multiplicando-se rapidamente, ganhando a via sanguínea e linfática, caracterizando a fase aguda da infecção. Os taquizoítos perfuram a membrada da célula invaginando o plasma da célula hospedeiro sem rompe-la (DUBEY, 2009).

2.3 TOXOPLASMOSE EM FELINOS

A parasitose pode infectar diversos felídeos silvestres, entre eles: as jaguatiricas, onças, leões, tigres, dentre outros, contaminados após a ingestão de carnes cruas contendo cistos teciduais tornando-os hospedeiros definitivos, em seguida, liberam oocistos em suas fezes passando-os para hospedeiros intermediários, como bovinos, ovinos, caprinos, suínos, entre outras espécies animais incluindo-se os animais silvestres, as aves e humanos (ANDRADE et al., 2016; SILVA, 2018). A contaminação de felinos domésticos pelo parasito está

associada ao consumo de carnes cruas ou tecidos, e geralmente associado ao habito de predação (RODRIGUES, 2015).

O diagnóstico dessa patologia é de suma importância e entre as diferentes técnicas recomenda-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), com a qual é possível reconhecer dois anticorpos principais, IgG e IgM diagnosticando por meio de um método analítico os títulos de anticorpos, sendo de alta especificidade e sensibilidade. A primeira imunoglobulina é utilizada nos inquéritos soroepidemiológicos, pois trata-se de anticorpo de fase crônica e a segunda, a IgM de resposta na infeção ou doença aguda (MARCIANO, 2018).

2.4 TOXOPLASMOSE EM CÃES

Como esta espécie não é considerada como definitiva para *Toxoplasma gondii*, os cães atestaram a sua importância como condutor mecânico desse protozoário, atuando como sentinelas para a infecção. O seu hábito carnívoro e de farejar, facilita esse contato com o parasita, pois sabemos que na natureza os cães podem se alimentar de alguns tecidos que podem conter cistos do parasita e o habito de farejar acaba fazendo com que o animal tenha mais contato com o solo, que pode estar contaminado (GERMANO et al.,1985; LINDSAY et al.,1997 e LANGONI et al., 2006).

Ao contrário do que acontece com os gatos, o toxoplasma não se replica no intestino de cães (ciclo enteroepitelial), sendo assim, esses animais não eliminam os oocistos em suas fezes, mas os cães tem relação com esta doença pelo fato deles terem hábitos de coprofagia e de rolar em ambientes que podem conter fezes de gatos infectados, e ao ingerirem e rolar em fezes que contenham os oocistos de *T. gondii*, os cães acabam levando em seu pelame a forma infectante, contaminando o ambiente e possivelmente o ser humano (FRENKEL e PARKER, 1996).

Estudos epidemiológicos realizados demonstram que este parasito está amplamente disseminado na população canina, no entanto, as manifestações clínicas desta doença e o diagnóstico acabam sendo negligenciados ou até mesmo, acaba não sendo reconhecido pelo médico veterinário clínico, contribuindo assim para uma demora ou ausência de um diagnóstico correto, já que esta patologia cursa com sinais

clínicos inespecíficos e acaba ocorrendo como oportunista no organismo do animal. As manifestações clínicas nos cães são variadas e similares a outras enfermidades, envolvendo vários sistemas e órgãos (LEAL e COELHO., 2014). Entre essas doenças, as coccidioses, que são enfermidades sem sintomatologia clínica específica, podem apresentar sinais desde uma diarreia, toxemias e/ou neuropatias, e podem também estar associada a sinais respiratórios (NICOLLE, MANCEAUX, 1908).

2.5 TOXOPLASMOSE EM HUMANOS

A toxoplasmose em humanos pode ocorrer por meio do consumo de carne mal cozida ou crua, contendo os cistos de *T. gondii*, ou também pelo consumo de água ou alimentos contaminados com oocistos do parasito (RANI e PRADHAN, 2021). Existe também a transmissão vertical, como abordado anteriormente, que pode acarretar significativa morbidade e mortalidade fetal, sendo imprescindível seu diagnóstico e tratamento precoces para diminuir os danos que esta doença pode ocasionar durante a gestação (VILAR et al., 2020).

A soroprevalência da infecção é variável entre diferentes países e suas diversas regiões. A prevalência do *T. gondii* é considerada elevada em todo mundo, e no Brasil, apesar da obrigatoriedade dos exames no pré-natal, as taxas de infecção, variam entre 50% a 80% (ZHANG et al.,2016). A ampla distribuição e a prevalência da toxoplasmose se devem a algumas características que estão relacionadas ao parasito: baixa exigência metabólica e alta capacidade de infecção (JENNES et al., 2017). Dados dos Estados Unidos apontaram a toxoplasmose como a quarta causa de hospitalização e a segunda causa de morte entre os 31 principais patógenos de origem alimentar (RANI e PRADHAN, 2021).

2.6 TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO

Trata-se de uma doença grave, que acarreta vários problemas socioeconômicos de importância, como a cegueira e o retardo mental nos bebes. Desta forma vários países europeus (França, Eslovênia, Áustria, Suíça, Alemanha, Itália e Bélgica) pesquisam a presença de anticorpos das classes IgM e IgG anti *T.*

gondii na mãe no pré-natal devido as consequências que a toxoplasmose pode acarretar durante a gravidez (LOGAR et al., 2002).

A toxoplasmose congênita e suas sequelas podem ser evitadas de várias formas, iniciando pela prevenção primaria, que é a disseminação de informações para às gestantes suscetíveis sobre fontes de infecção; triagem sorológica pré-natal, que se baseia no diagnóstico mais precoce da toxoplasmose gestacional, seguida por tratamento adequado para prevenir ou limitar a transmissão transplacentária e diagnóstico e tratamento fetal; e pela triagem neonatal, seguida pelo tratamento adequado de recém-nascidos infectados para se evitar complicações (LAGO et al., 2007).

Nas gestantes o aspecto social é considerado um fator de risco para a toxoplasmose congênita, já que pode existir uma relação direta na qualidade do cuidado pré-natal (VILAR et al., 2020). Rehman et al. (2020) mostraram que a ingestão de leite não pasteurizado de vaca é um fator de risco para as gestantes. Moura et al. (2019) descreveram as associações significativas entre vários fatores de risco para o acontecimento da toxoplasmose em gestantes: consumo de água sem tratamento, contato com gatos, limpeza das fezes do gato, contato com areia e consumo de carne crua ou mal cozida. Destaca-se as diferentes vias de transmissão na toxoplasmose.

Apesar da ampla distribuição mundial, a toxoplasmose é mais comum em países de clima tropical, onde as taxas de infecção estão diretamente ligadas ao nível socioeconômico, qualidade de água, hábitos alimentares e condições higiênico-sanitárias da população. Cerca de 25 a 30% da população mundial já teve contato com o protozoário, e no Brasil, estudos em gestantes evidenciam que cerca de 42% a 90% das grávidas apresentam infecção crônica (PESSANHA et al.,2011; BARTHOLO et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realização de inquérito sorológico, em cães atendidos no Hospital Veterinário da UVV, no período de janeiro a março de 2022, provenientes da grande Vitória, a fim de investigar a resposta sorológica de anticorpos da classe IgG anti *Toxoplasma gondii*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a soroprevalência de acordo com a idade, sexo e raça dos animais.

4 HIPOTESE

A idade é um fator relevante para ocorrência da toxoplasmose, pois cães mais velhos tem maiores chances de contato com as principais vias de transmissão de contrair da doença, como pela alimentação, água e contato com o meio ambiente contaminado, principalmente com oocistos esporulados, e também pela caça predatória e ingestão de bradizoítos, contidos na musculatura, principalmente no caso de pequenos roedores e passeriformes. As variáveis avaliadas como a raça, sexo e idade são importantes do ponto de vista epidemiológico, quando se avalia os fatores de risco para a infeção.

5 MATERIAL E METODO

Foram utilizadas 150 amostras de conveniência, de soro de cães, provenientes dos atendimentos realizados no Hospital Veterinário da Universidade Vila Velha, nos meses de janeiro a março de 2022.

Os animais que são atendidos no HV-UVV são provenientes da região da Grande Vitória, que tem uma extensão territorial de 2.331 km², e é formada pelos municípios de Cariacica, Fundão, Guarapari, Serra, Viana, Vila Velha e Vitória, sendo sua população composta por 2.006.486 habitantes com uma população de 862.876 cães segundo o site da g1 IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) no ano de 2015.

Essas amostras foram acondicionadas em temperatura de -30ºC e escolhidas aleatoriamente no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade, onde se encontravam estocadas. Após selecionar o número de amostras estabelecido e necessárias para o estudo, verificou-se a raça, sexo e idade, nas fichas cadastrais dos respectivos animais.

Com as amostras selecionadas e os dados necessários identificados foi realizado, no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp de Botucatu, a parte experimental da pesquisa, que foi realizada após treinamento da técnica a ser empregada, acompanhada por médico veterinário Residente da área de Zoonoses e Saúde Pública.

Foi utilizada a técnica de Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI), de acordo com Camargo et al (1977). Inicialmente realizou-se a prova de triagem (Figura 1), e nos casos de reação positiva, foi realizada a titulação, da respectiva amostra de soro, para avaliação do título final, para a imunoglobulina, da classe IgG anti *T. gondii*.

Figura 1: Amostras selecionadas e identificadas prontas para realizar a triagem.
Fonte: Arquivo pessoal.

Foram utilizadas lâminas pré-fixadas, com taquizoítos da cepa RH de *T. gondii*, preparadas no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses - SDZ da FMVZ. A solução antigênica é obtida por meio de lavados intraperitoneais de camundongos, previamente inoculados intraperitonealmente (Figura 2), com 1 ml de suspenção rica em taquizoítos de *Toxoplasma gondii.* Após obter o lavado, o mesmo é transferido para um tubo de centrifuga (50 ml), adicionando-se, em igual volume solução de formol 0,2% (9,8 ml de solução salina + 0,2 ml de formol puro). A seguir incuba-se a temperatura de 37ºC por 30 minutos, homogeneizando-se suavemente, por inversão, a cada 10 minutos.

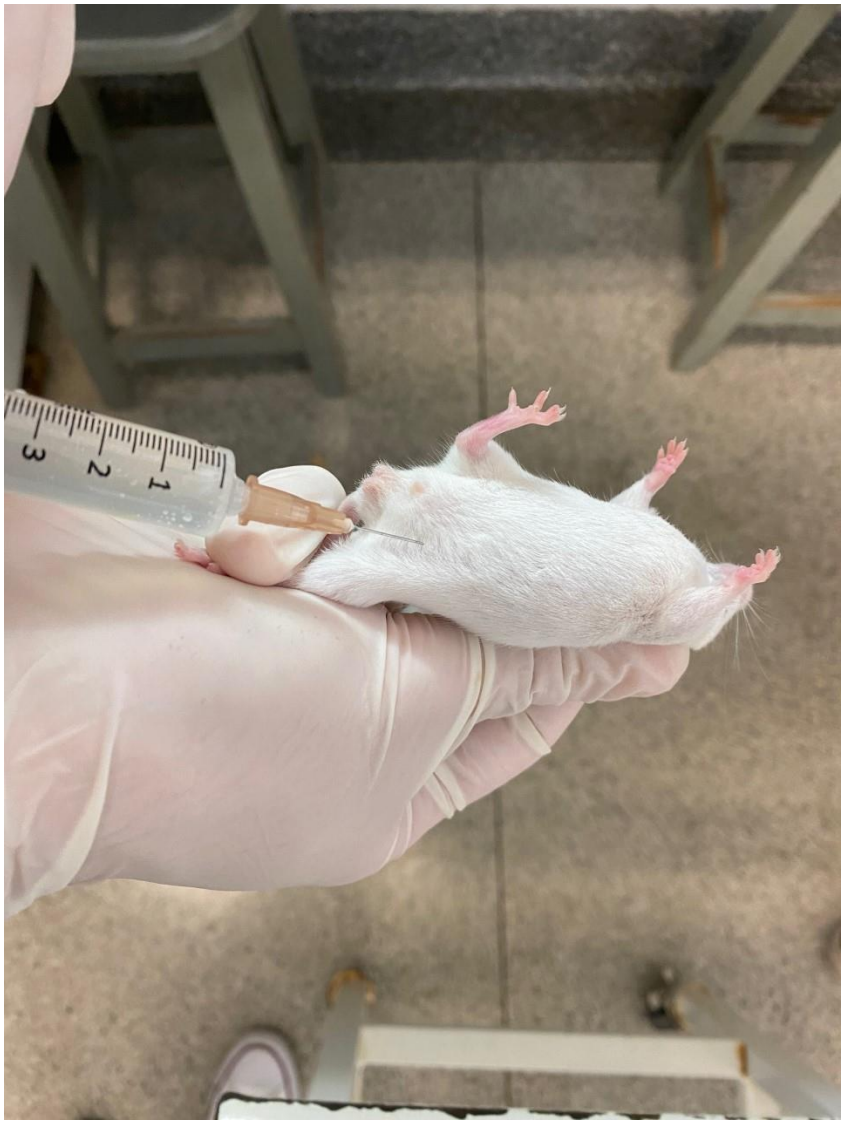


Figura 2: Inoculação de solução rica em taquizoítos de *T. gondii*, via intraperitoneal, em camundongo, para obtenção de taquizóitos para a fixação das lâminas, a serem utilizadas na Reação de Imunofluorescência Indireta- RIFI.
Fonte: Arquivo pessoal.

A seguir, centrifuga-se a suspensão antigênica inativada, a 3000 rpm por 10 minutos e descarta-se o sobrenadante. Ao sedimento, acrescenta-se 2-3 ml de solução salina tamponada (SST) 0,01M pH 7,2. Homogeneíza-se em vórtex e centrifuga-se novamente a 3000 rpm por 10 minutos. Descarta-se o sobrenadante e adiciona ao sedimento 1-2 ml de SST 0,01M pH 7,2, observando-se a sua concentração em lâmina (Figura 3), de tal forma que a solução contenha de 30 a 40 taquizoítos por campo, pipetando-se 50 microlitros em uma lâmina, cobrindo-se com lamínula 24x60 mm para proceder a contagem dos taquizoítos.

Figura 3: Lâminas fixadas com solução rica em taquizoítos de *T. gondii.*
Fonte: Arquivo pessoal.

As lâminas utilizadas na RIFI são compostas por duas fileiras de seis poços, fixada com o antígeno, procedendo-se a adição de 10 microlitros em cada poço de solução antigênica, e espera-se de 2-3 minutos para ocorrer a fixação dos taquizoítos na lâmina e, em seguida, retira-se o excesso por aspiração, restando uma camada fina, como uma película, sobre cada poço ou perfuração a ser utilizada na reação. Depois de secas a temperatura ambiente, as lâminas são estocadas em caixa de madeira ou laminários, e são mantidas sob temperatura de congelamento entre – 18ºC a – 20ºC, por período máximo de dois meses, antes do seu uso.

Com o material para a pesquisa de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii*, utiliza-se amostras de no mínimo 0,5 ml de soro. As amostras estavam devidamente dessoradas e acondicionadas em eppendorfs identificados, mantidas sob temperatura de congelamento até o seu processamento.

No momento de realizar o exame a amostra de soro foi diluída em SST 0,01M pH 7,2 nas diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096, e em quantas diluições fossem necessárias, para se avaliar o título final de cada amostra. Em microplacas

devidamente identificadas, pipetou-se 150 microlitros de SST 0,01M pH 7,2, nas suas perfurações, formando-se uma fileira. O número de perfurações preenchidas é de acordo com o número de diluições a serem testadas.

No primeiro poço é adicionado o soro teste, 10 microlitros de soro para obter a diluição 1:16. Após homogeneização, transferiu-se 50 microlitros dessa primeira diluição para o segundo poço, obtendo-se a diluição 1:64. Procedeu-se assim para os demais poços, obtendo-se diluições em quadruplicata. No final, após homogeneização, desprezou-se 50 microlitros, referente a última diluição testada. Na mesma microplaca, procede-se da mesma maneira para os soros controles positivos e negativos, pipetando 10 microlitros de soro sabidamente positivo e negativo.

Na lâmina previamente fixada com antígeno, pipetou-se 10 microlitros de cada diluição do soro em cada poço, em fileira, ordenados em forma crescente de diluição, pipetando inversamente, ou seja, da maior diluição para a menor.

As lâminas que foram usadas para realizar os testes foram incubadas a 37ºC por 30 minutos, e a seguir realizaram-se duas lavagens com o SST 0,01M pH 7,2 (Figura 4), por 10 minutos cada. A seguir, o conteúdo da cuba, onde estavam as lâminas foi desprezado, preenchendo-se novamente com a solução, mantendo-se as lâminas por mais 10 minutos, na solução de lavagem.

Figura 4: Lâminas em banho na solução SST 0,01M pH 7,2.
Fonte: Arquivo pessoal.

Em seguida acrescentou-se à reação o conjugado que nada mais é do que o anticorpo anti-IgG especifica para a espécie pesquisada (no caso dessa pesquisa foi utilizado o de cão), conjugado com o isotiocianato de fluoresceína, diluído de acordo com seu título, previamente estabelecido, em solução de Evans a 20 mg% (Figura 5), também previamente preparada, que no momento do uso deve ser diluída a 1:5 ou seja, 1 ml de azul de Evans mais 4 ml de SST 0,01M pH 7,2.

Figura 5- Solução de azul de Evans 2% juntamente com o conjugado.
Fonte: Arquivo pessoal.

O conjugado é adicionado no volume de 10 microlitros em cada uma das diluições. A lâmina é incubada a 37ºC, em câmera úmida por 30 minutos e a seguir é lavada em SST 0,01M pH 7,2 duas vezes durante 10 minutos cada, adotando-se o mesmo procedimento descrito anteriormente.

Após secagem das lâminas foram colocadas duas gotas de solução glicerinada pH 8,5, sobre a lâmina, cobrindo-se com lamínula. Procedeu-se a leitura em microscópio de imunofluorescência, com objetiva de 40X e ocular de 10X. Após analisar os controles, a leitura foi procedida, nas amostras em teste, considerando o ponto final da reação a maior diluição do soro, em que ainda havia fluorescência completa e intensa na borda de pelo menos 50% dos taquizoítos, sendo este então o título de anticorpo que o animal apresenta e que é expresso em UI, por exemplo 64 UI.

6 RESULTADOS

Das 150 amostras analisadas, 16 amostras (10,66%) foram reagentes na RIFI, com títulos variáveis. As demais, 134 amostras (89,34%) foram não reagentes.

Das amostras positivas, 15 (93,75%) apresentaram título 16 UI, 11 (68,75%) título 64 e 3 (18,75%) título 256 UI.

Em relação ao sexo, das 16 amostras positivas, 9 (56,25%) eram fêmeas e os demais 7 (43,75%) machos. Dessas 9 fêmeas, 7 (77,77%) eram SRD (sem raça definida) e as outras duas restantes eram da raça Poodle. Dos 7 machos, apenas 2 (28,57%) eram SRD e os outros 5 animais (71,43%) eram das raças Golden Retriever, Husky Siberiano, Poodle, Basset Hound e Bulldog.

As idades dos animais reagentes, variavam de três até 15 anos de idade. Os que apresentaram titulação mais elevada, 256 UI tinham idade de 10 e 12 anos. Na tabela 1, são apresentados os dados referentes aos animais sororreagentes.

NÚMERO	RG DO ANIMAL	ESPÉCIE, RAÇA, SEXO	IDADE	DATA DA COLETA
1	31651/22 - Monaliza	Canina, fêmea, SRD	10 anos	26.01.22
2	28772/21- Maya	Canina, fêmea, poodle	4 anos	06.01.22
3	31611/22- Teo	Canina, macho, SRD	2 anos	20.01.22
4	10558/13- Alef	Canina, macho, Golden	12 anos	25.01.22
5	30399/21- Lisa	Canina, fêmea, SRD	9 anos	31.01.22
6	31924/22- Eros	Canina, macho, Husky	3 anos	23.02.22
7	31744/22- Coxinha	Canina, fêmea, SRD	12 anos	04.02.22
8	23188/19- Raika	Canina, fêmea, SRD	15 anos	25.02.22
9	23446/19-Maya	Canina, fêmea, SRD	12 anos	24.02.22
10	31676/22- Negão	Canina, macho, SRD	12 anos	29.03.22
11	32203/22-Cleilin	Canina, macho, Basset Hound	6 anos	23.03.22
12	32150/22- Neguinha	Canina, fêmea, Poodle	14 anos	18.03.22
13	32154/22- Thor	Canina, macho, Bulldog	7 anos	22.03.22
14	32028/22- Dayse	Canina, fêmea, SRD	7 anos	10.03.22
15	31752/22- Catarina	Canina, fêmea, SRD	4 anos	18.03.22
16	32297/22- Pipo	Canina, macho, Poodle	10 anos	31.03.22

Tabela 1: Tabela demonstrando os animais positivos para *T. gondii*, onde são apontadas a raça, sexo, idade e data da coleta. Todos os animais tinham um número de cadastro no HV-UVV.

7 DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi obtivo uma porcentagem de 10,66% de animais soropositivos para *T.gondii,* demonstrando assim uma similaridade com o estudo realizado por Dantas et al. (2014), onde testaram 476 cães, e 55 deles foram positivos, demonstrando assim, uma porcentagem de 11,5% bem próxima ao estudo realizado nos animais atendidos no HV-UVV . A frequência observada no presente estudo é baixa quando comparada com resultados obtidos em outros estados brasileiros, como em Rondônia, 76,4% (CAÑON-FRANCO et al., 2004) e Paraíba 45,1% (AZEVEDO et al., 2005). Salienta-se que estes resultados podem ser devido ao número de amostras testadas, teste diagnóstico utilizado, período de realização do estudo, e características individuais da população canina estudada.

Coiro et al (2011), obtiveram resultados diferentes aos encontrados na presente pesquisa, com 20,8% de animais soropositivos para *T. gondii*, em 302 amostras de soro canino, na região de Botucatu-SP. Consideramos que estes inquéritos são importantes para se se avaliar, nas diferentes regiões, não somente a soroprevalência, mas também os resultados sorológicos com a relação aos títulos obtidos da infecção toxoplásmica.

No presente estudo, os títulos com maior frequência foram 16 UI e 64 UI, concordando com os resultados obtidos por Paz et al (2019). No estudo citado, foram encontrados 38,0% de animais sororreagentes para anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii*, uma porcentagem maior do que a obtida no presente estudo. Novamente, destaca-se o número de amostras avaliadas, e a procedência diferente dos animais, nos dois estudos. Estes fatores devem ser avaliados e interpretados cuidadosamente com os resultados obtidos nas diferentes pesquisas, não somente no que se refere a toxoplasmose, mas também com relação a outras enfermidades, principalmente as enfermidades infecciosas.

Pode-se notar que tanto no trabalho realizado por Coiro et al (2011) quanto no presente estudo, as fêmeas tiveram mais chances de infecção que os machos. Considerando-se que a toxoplasmose é um problema de saúde única, especula-se a importância da pesquisa de oocistos presentes no entorno de onde vivem estes

animais, para poder se avaliar melhor os fatores de risco, relacionados a contaminação ambiental, claro, que independente do sexo dos animais, mas no presente estudo seria intrigante, a avaliação da participação do meio ambiente, fechando-se o ciclo de infecção no caso destas fêmeas positivas.

No presente estudo, os títulos obtidos com maior frequência foram 16 UI e 64 UI, concordando com Paz et al (2019). Apesar de títulos baixos, se comparados a outros estudos sobre a soroprevalência da toxoplasmose canina, nas diferentes regiões do país, e também no exterior, enfatiza-se o contágio prévio desses animais sororreagentes com o agente infeccioso, indicando o possível risco de infecção para o ser humano, uma vez que eles convivem nos mesmos ambientes, e estão expostos aos mesmos fatores de risco.

A idade é considerada um fator de risco para a infecção por *T.gondii*, e no presente estudo, verificou-se que os cães soropositivos apresentavam idade superior aos 48 meses, com maior chance de serem soropositivos, em comparação com cães de 3 a 12 meses de idade. Este, resultado corrobora com os descritos por CAÑÓN-FRANCO et al. (2004) e AZEVEDO et al. (2005), que obtiveram soroprevalência maior nos animais com idade mais avançada, evidenciando a maior possibilidade de acesso as fontes de infecção e vias de transmissão com o passar da idade. Tal fato, pode ocorrer na infecção por outros patógenos, considerando-se que os animais mais velhos têm maiores chances de se expor aos agentes infecciosos, seja pelo contato com outros animais, e também pelo contágio com o agente presente no meio ambiente.

Como não sabemos a procedência dos cães que utilizamos para o estudo, por tratar-se de amostras de conveniência, obtidas no banco de soro do Laboratório Clínico do HV da UVV, apesar do cadastro, e possivelmente serem animais que vivem com seus tutores, sendo assim, domesticados, podemos inferir, e de acordo com Paz et al (2019), que os cães domésticos apresentam uma menor soroprevalência, para toxoplasmose devido as menores chances de contato com outros animais. No caso específico da doença estudada, enfatizamos que os gatos são os hospedeiros definitivos na toxoplasmose, contaminando o meio ambiente, a partir da eliminação de oocistos esporulados, e havendo a menor chance de contato com estes animais, espera-se um menor risco de infeção.

Outras variáveis como a alimentação, acesso à rua, convívio com outros animais, convívio com felinos domésticos, tipo de água que consomem, dentre outras variáveis importantes, devem ser avaliadas como fatores de risco. No presente estudo não era objetivo avaliar e cruzar os resultados frente a essas variáveis, sendo este um aspecto limitante do mesmo. Sugere-se, entretanto novos estudos, avaliando-se um maior número de amostras, aplicando-se aos tutores dos animais, questionário epidemiológico estruturado, para poder se avaliar os fatores de risco da toxoplasmose canina em animais da região metropolitana da Grande Vitória. Salienta-se, também, que contribuíram para os aspectos levantados, o pouco tempo disponível para a realização do estudo e ainda os efeitos nefastos da pandemia do COVID 19.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos que abordem os cães como sentinelas para a toxoplasmose e o seu devido papel na participação desta doença de caráter zoonótico são de extrema importância, pois sabemos que a população de cães é grande e o convivo do animal com os seres humanos só tem crescido, aumentado assim os riscos de infecção e doença aos humanos. Apesar de ser uma zoonose, ainda requer novos estudos quanto ao papel dos cães no ciclo epidemiológico de transmissão da doença, sendo estimulados novos estudos, na região e no Estado do Espírito Santo.

Apesar das limitações elencadas, consideramos relevantes os resultados obtidos, reforçando a importância do cão, como animal sentinela na toxoplasmose especificamente, no presente estudo, e que o agente estudado está presente no entorno onde vivem esses cães, com riscos de transmissão desta zoonose, principalmente para gestantes, que é o principal problema relacionado a esta enfermidade, quanto a saúde pública.

A realização desta pesquisa, foi importante sim, pelos resultados obtidos, e também pela possibilidade de ter realizado a parte experimental do estudo na FMVZ, UNESP de Botucatu, e ter conhecido outras pessoas, nova realidade, e ter de fato realizado juntamente com a equipe do meu orientador, a análise das amostras pela técnica de imunofluorescência indireta-RIFI.

REFERÊNCIAS

ACHA P.N., SZYFRES B**.** Zoonoses and comunicable diseases common to man and animals. Scientific Publication. N. 503. **Pan American Health Organization/ World Health Organization**. Washington, EUA. p.963. 1987.

ANDRADE, A. C. S.; BITTENCOUR, L. H. F. B.; GODOI, N. F. C.; LIBARDI, K. A.; WESCHENFELDER, D. R. S.; PICOLOTTO, G. D. C. G. P.. Prevalência de anticorpos anti-toxoplasma gondii em felinos frequentadores de clínicas e hospitais veterinários de Cascavel, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.18, n.4, 2016.

ALVES, Luciana Casartelli et al. **Ocorrência da infecção por Toxoplasma gondii em Gallus gallus domesticus criados extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro,** Brasil. 2009. Tese de Doutorado.

AMATO NETO, V., MEDEIROS, E. A. S., LEVI, G. C & DUARTE, M. I. S. D. **Toxoplasmose**. 4ª ed. São Paulo: Sarvier, 154p. 1995.

ARANTES T.P., LOPES W.D.Z., FERREIRA R.M., PIERONI J.S.P., PINTO V.M.R., SAKAMOTO C.A. & COSTA A.J. Toxoplasma gondii: Evidence for the transmission by sêmen in dogs. **Exp. Parasitol**. 123:190-194. 2009.

AZEVEDO, Sérgio Santos de et al. Soroepidemiologia de Toxoplasma gondii e Neospora caninum em cães do estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil. **Investigação em Ciências Veterinárias**, v. 79, n. 1, pág. 51-56, 2005.

BÁRTHOLO, Bárbara BG Raskovisch et al. Toxoplasmose na gestação. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 14, n. 2, 2015.

BOA SORTE, Eveline da Cruz et al. **Ocorrência da infecção por Toxoplasma gondii por sorologia e PCR associado a fatores de risco em cães**. 2012.

BRESCIANI K.D.S., TONIOLLO G.H., COSTA A.J., SABATINI G.A. & MORAES F.R. Clinical, parasitological and obstetric observations in pregnant bitches with experimental toxoplasmosis. **Ciência Rural**. 31:1039-1043. 2001.

CAMARGO, M. E. et al. Padronização de testes sorológicos para toxoplasmose, problema urgente da patologia clínica. **Rev Bras Patol Clín**, v. 13, p. 1-5, 1977.

CAMARGO, Mario E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. In: **Introdução às técnicas de imunofluorescência** . 1973. pág. 112-112.

CAMOSSI, LG et al. Fatores de risco ambientais para toxoplasmose canina em bairro carente de Botucatu, SP, Brasil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases** , v. 14, p. 450-465, 2008.

CAÑÓN-FRANCO, William Alberto et al. Ocorrência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em cães na área urbana de Monte Negro, Rondônia, Brasil. **Comunicações de Pesquisa Veterinária**, v. 28, n. 2, pág. 113-118, 2004.

CHAPLIN, E. L. et al. Prevalência de cães sorologicamente positivos para Toxoplasma gondii (Nicolle & Manceuax 1908) internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária UFRGS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 8, p. 85-88, 1980.

COIRO, Carla Janeiro et al. Fatores de risco para leptospirose, leishmaniose, neosporose e toxoplasmose em cães domiciliados e peridomíciliados em Botucatu-SP. **Veterinária e Zootecnia**, p. 393-407, 2011.

DE MOURA, Anderson Barbosa et al. ANTICORPOS CONTRA Toxoplasma gondii EM GATOS APREENDIDOS PELO CENTRO DE CONTROLE DE ZOONOSES DE LAGES, SC. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 1, 2015.

DUBEY J. P. Toxoplasmosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 205:1593-1598. 1994.

DUBEY J.P., LINDSAY D.S., SPEER C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cyst. **Clin. Microbiol. Rew.** 11:267-299. 1998.

DUBEY J.P. The history of Toxoplasma gondii – the first 100 years. J. **Euk. Microbiol.** 55:467–475. 2008.

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

DUBEY, J.P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. Boca Raton: CRC, Taylor & Francis Group, 2010. 2v.

ES tem mais animais de estimação do que crianças, diz IBGE. **g1**, 2015. Disponível em: https://g1.globo.com/espirito-santo/noticia/2015/06/es-tem-mais-animais-de-estimacao-do-que-criancas-diz-ibge.html. Acesso em 23 de outubro de 2022.

FRENKEL, JK; PARKER, BB Um papel aparente dos cães na transmissão do Toxoplasma gondii: a provável importância da xenosmofilia. **Annals of the New York Academy of Sciences** , v. 791, n. 1, pág. 402-407, 1996.

GERMANO, Pedro Manoel Leal; ERBOLATO, Elcio Benedito; ISHIZUKA, Masaio Mizuno. Estudo sorológico da toxoplasmose canina, pela prova de imunofluorescência indireta, na cidade de Campinas, 1981. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 22, n. 1, p. 53-58, 1985.

LANGONI, Hélio et al. Perfil sorológico de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em cães aparentemente saudáveis da cidade de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases** , v. 12, p. 142-148, 2006.

LEAL, PDS; COELHO, Cleide Domingues. Toxoplasmose em cães: uma breve revisão. **Coccid** , v. 2, p. 2-39, 2014.

LOGAR, Jernej et al. Prevenção da toxoplasmose congênita na Eslovênia por triagem sorológica de mulheres grávidas. **Revista Escandinava de Doenças Infecciosas** , v. 34, n. 3, pág. 201-204, 2002.

LINDSAY, DS et al. Transmissão mecânica de oocistos de Toxoplasma gondii por cães. **Parasitologia veterinária** , v. 73, n. 1-2, pág. 27-33, 1997.

LOGAR, Jernej et al. Prevenção da toxoplasmose congênita na Eslovênia por triagem sorológica de mulheres grávidas. **Revista Escandinava de Doenças Infecciosas** , v. 34, n. 3, pág. 201-204, 2002.

LAGO, Eleonor G. et al. Toxoplasmose congênita: infecções no final da gravidez detectadas pela triagem neonatal e sorologia materna no parto. **Epidemiologia pediátrica e perinatal** , v. 21, n. 6, pág. 525-531, 2007.

MARCIANO, Maria Aparecida Moraes; ANDRADE JUNIOR, Heitor Franco de; MEIRELES, Luciana Regina. Avaliação da técnica de ELISA para pesquisa de IgG anti-Toxoplasma gondii em exsudatos de carnes de sol. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos** , v. 21, 2018.

MARTINS, C. S. Zoonoses felinas: mitos e verdades. In: SOUZA, H. J. M de. **Coletâneas em Medicina e Cirurgia Felina**. Rio de Janeiro: L. F. Livros de Veterinária, Cap. 36, p.447. 2003.

MEIRA, Affonso Renato. Alfonso Splendore: facetas da vida do descobridor do Toxoplasma. **Scientia Medica**, v. 20, n. 1, p. 2, 2010.

MOURA, Anderson B. de et al. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco para infecção por Toxoplasma gondii em cães, nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 52-56, 2009.

MOURA, Ivone Pereira da Silva et al. Imperatriz, Maranhão, Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, p. 3933-3946, 2019.

MONTOYA J.G. & LIESENFELD O. Toxoplasmosis. **Lancet.** 363:1965-1976, 2004.

PAZ, Giselle Souza da et al. Infecção por Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Leishmania major e Trypanosoma cruzi em cães do estado do Pará. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, 2019.

PESSANHA, Tatiana Melino et al. Abordagem diagnóstica e terapêutica da toxoplasmose em gestantes e as repercussões no recém-nascido. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, p. 341-347, 2011.

RANI, S.; PRADHAN, A.K. Evaluating uncertainty and variability associated with Toxoplasma gondii survival during cooking and low temperature storage of fresh cut meats. **International Journal of Food Microbiology**.v.341, p. 109031, 2021.

REHMAN, F. et al. Unpasteurised milk consumption as a potential risk factor for toxoplasmosis in females with recurrent pregnancy loss. **Journal of obstetrics and gynecology**.v.40, n.8, p.1106-1110, 2020

RODRIGUES, D. N. J.. **Avaliação do conhecimento da população sobre formas de transmissão e medidas Preventivas da toxoplasmose em Mossoró-RN**. Dissertação (Mestrado em Estratégias Sustentáveis de Desenvolvimento do Semiárido) - Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2015.

ROCHA A.C.H. **Alterações morfométrica na retina de camundongos C57BL/6 infectados com *Toxoplama gondii* e pesquisa de apoptose**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. 2009.

SANTANA, L.R.; OLIVEIRA, T.P. Guarda Responsável e dignidade dos animais. **Revista Brasileira de Direito Animal**, v.1, n.1, p.67-104, 2006.

SAKATA, F.B.L.S. **Prevalência e fatores de risco para *Toxoplasma gondii* em ovinos no município de Lages, Santa Catarina, Brasil. Dissertação** (Mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias. Univ. do Estado de Santa Catarina – UDESC. 2010.

SILVA, C. A.. Frequência de Toxoplasma gondii em amostras de tecidos de frangos e em cérebro de camundongos. **Anais Seminário de Iniciação Científica**, n.20, 2018.

TENTER, Astrid M.; JOHNSON, Alan M. Filogenia dos coccídios formadores de cistos teciduais. **Avanços em Parasitologia** , v. 39, p. 69-139, 1997.

TENTER A.M.; HECKETOTH A.R., WEISS L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.** 30:1217-1258. 2000.

VILAR, B.B.F. et al. Toxoplasmosis in pregnancy: a clinical, diagnostic, and epidemiological study in a referral hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **The Brazilian Journal of infectious diseases**. v.24, n.6, p.517–523, 2020.

KAWAZOE U. *Toxoplasma gondii.* p.149-156. In: Neves D.P. (11Ed.) **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu. 2005.

KOCHANOWSKY, Joshua A.; KOSHY, Anita A. Toxoplasma gondii. **Current Biology** , v. 28, n. 14, pág. R770-R771, 2018.

ZHANG, K. et al. **Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization**. Clinica Chimica Acta. v.461, p.83-89, 2016.