

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

PESQUISA DE *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) EM CÃES
DOADORES DE SANGUE NO RIO DE JANEIRO.

Natalia Santana Lima Borges Figueiredo

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

PESQUISA DE *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) EM CÃES
DOADORES DE SANGUE NO RIO DE JANEIRO.

NATALIA SANTANA LIMA BORGES FIGUEIREDO

Sob a Orientação da Professora
Andressa Ferreira da Silva
e a Co-orientação do Professor
Bruno Ricardo Soares Alberigi da Silva

Dissertação/Tese submetida como
requisito parcial para obtenção do grau
de **Mestre em Medicina Veterinária**,
no Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária - Patologia e
Ciências Clínicas, Área de Concentração
em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Fevereiro, 2024.

F475p

Figueiredo, Natalia Santana Lima Borges, 1988-
Pesquisa de Toxoplasma gondii (Nicolle & Menceaux,
1918) em cães doadores de sangue / Natalia Santana
Lima Borges Figueiredo. - Seropédica, 2024.
47 f. : il.

Orientadora: Andressa Ferreira da Silva Spyrides.
Coorientador: Bruno Ricardo Soares Alberigi da
Silva.

Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas,
2024.

1. Cachorro. 2. Bolsa de Sangue. 3. Toxoplasmose.
I. Spyrides, Andressa Ferreira da Silva, 1983-,
orient. II. Silva, Bruno Ricardo Soares Alberigi da,
1987-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

NATÁLIA SANTANA LIMA BORGES FIGUEIREDO

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/02/2024

Andressa Ferreira da Silva Spyrides. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Claudia Bezerra da Silva. Dra. UFRRJ

Gideão da Silva Galvão. Dr. UFRB



TERMONº267/2024-PPGMV(12.28.01.00.00.00.51)

(NºdoProtocolo:NÃOPROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 24/04/2024 11:52)
ANDRESSA FERREIRA DA SILVA SPYRIDES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matricula: ###327#6

(Assinado digitalmente em 16/04/2024 21:37)
CLAUDIA BEZERRA DA SILVA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)
Matricula: ###035#8

(Assinado digitalmente em 17/04/2024 14:55)
GIDEÃO DA SILVA GALVÃO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ### ###.745-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/documentos/informandoseunumero:267,ano:2024,tipo:TERMO>, data de emissão: 15/04/2024 e código de verificação: 6b440b9f27

“O conhecimento transmite ao
homem a firmeza nas suas atitudes”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente a Deus por me conceder saúde e força para superar todas as dificuldades ao longo desta jornada de mestrado. Também expresso minha gratidão à minha mãe, Denise Santana Lima, e à minha avó, Maria Eliete Santana Lima, por todo o apoio e amor incondicional que me deram ao longo dos anos.

Gostaria de agradecer especialmente à minha querida amiga Suzane, por dedicar seu tempo e disponibilizar todo o material necessário para a realização desta dissertação. Sua generosidade e colaboração foram essenciais para o sucesso deste trabalho. Além disso, sou imensamente grata a todas as meninas - Marcela, Leila, Heloisa e Renata, que me auxiliaram nos testes e não foram poucos. Sem a ajuda de vocês, certamente não teria alcançado os resultados desejados.

Agradeço também aos meus amigos - Luana, Bianca e Leonardo - que sempre estiveram ao meu lado, torcendo por mim e me dando forças para continuar. Suas palavras de encorajamento e apoio foram fundamentais para que eu não desistisse em momentos de desânimo.

À professora Andressa o meu muito obrigado, você foi fundamental para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional. Sua confiança, apoio e generosidade foram essenciais para o meu sucesso no mestrado. Serei eternamente grata por tudo que aprendi e por todas as oportunidades que você me proporcionou.

Por fim, não posso deixar de mencionar Federico Cupello, a quem devo um agradecimento especial. Se não fosse por ele, eu sequer teria dado o primeiro passo nessa jornada acadêmica. Sua orientação, sabedoria e incentivo foram determinantes para que eu seguisse em frente e concluísse esta dissertação de mestrado.

A todos vocês, expresso minha mais sincera gratidão, que contribuíram de forma direta ou indireta no desenvolvimento deste projeto. Sei que esta conquista não teria sido possível sem o apoio de cada um de vocês. Que essa dissertação seja apenas o início de uma jornada de sucesso e realizações para todos nós. Muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

RESUMO

FIGUEIREDO, Natalia Santana Lima Borges. **Pesquisa de *Toxoplasma gondii*(Nicolle & Menceaux, 1918) em cães doadores de sangue.** 2024. 35p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

A toxoplasmose é uma doença de distribuição mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* que acomete diversas espécies, dentre elas, animais de estimação, como cães e gatos, e também os humanos. Por se tratar de uma doença com potencial zoonótico, e de alto risco para gestantes e pacientes imunossuprimidos, a toxoplasmose é um tema de relevância para a saúde pública que merece atenção e estudo. Ainda que existem outras formas de transmissão da doença, a possível transmissão do parasito por via hematogênica em cães doadores de sangue é o tema do presente trabalho, que tem como objetivos estabelecer incidência da doença em bancos de sangue e o nível de relevância da detecção desse agente etiológico em exames de triagem de doadores. Para isso, o estudo analisou amostras de sangue de 100 cães doadores de sangue do município de Niterói, cedidas pelo banco de sangue Hemovita, para pesquisa de anticorpos IgG anti-*T.gondii*, bem como o acesso aos dados de registros de fatores de risco como idade, raça, sexo e manejo alimentar. As amostras foram testadas a cada 3 meses, totalizando 300 amostras. Como resultado, 8% das amostras na primeira coleta apresentaram resultado positivo, sendo cinco fêmeas e três machos, dos quais dois pertenciam a um mesmo canil, enquanto os outros seis pertenciam a canis distintos. Na segunda coleta, o número de animais positivos elevou para 14% e na terceira e última coleta, 15% dos cães foram diagnosticados como soropositivos (titulação 1/200). A detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em uma porcentagem considerável dos animais analisados reforça a importância de investigar a presença desse agente nos exames de triagem de doadores. É fundamental implementar protocolos de triagem que incluam a detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* para garantir a segurança dos receptores de sangue. Espera-se que as informações aqui apresentadas possam ser utilizadas para aprimorar as práticas de triagem e prevenção da toxoplasmose, contribuindo assim para a saúde e bem-estar dos animais doadores e receptores de sangue.

Palavras-chave: cachorro, bolsa de sangue, toxoplasmose.

ABSTRACT

FIGUEIREDO, Natalia Santana Lima Borges. **Research for *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Menceaux, 1918) in blood donor dogs**. 2024. 35p. Researchproject (Master's in Veterinary Medicine). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Toxoplasmosis is a worldwide disease caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* that affects several species, including pets, such as dogs and cats, and also humans. As it is a disease with zoonotic potential, and a high risk for pregnant women and immunosuppressed patients, toxoplasmosis is a topic of relevance to public health that deserves attention and study. Although there are other forms of transmission of the disease, the possible transmission of the parasite via hematogenous route in blood donor dogs is the subject of this work, which aims to establish the incidence of the disease in blood banks and the level of relevance of detecting this disease. To this end, the study analyzed blood samples from 100 blood donor dogs in the city of Niterói, provided by the Hemovita blood bank, to search for IgG anti-*T.gondii* antibodies, as well as access to data from risk factor records. such as age, race, sex and dietary management. Samples were tested every 3 months, totaling 300 samples. As a result, 8% of samples in the first collection showed a positive result, five females and three males, two of which belonged to the same kennel, while the other six belonged to different kennels. In the second collection, the number of positive animals increased to 14% and in the third and final collection, 15% of the dogs were diagnosed as seropositive (titration 1/200). The detection of IgG anti-*T. gondii* in a considerable percentage of the animals analyzed reinforces the importance of investigating the presence of this agent in donor screening tests. It is essential to implement screening protocols that include the detection of IgG anti-*T. gondii* to ensure the safety of blood recipients. It is hoped that the information presented here can be used to improve toxoplasmosis screening and prevention practices, thus contributing to the health and well-being of blood donor and recipient animals.

Keywords: dog, blood bag, toxoplasmosis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação etária em cães. Tradução livre de AAHA Canine Life Stage Guidelines, 2019	9
Tabela 2: Tabela de controle dos animais.....	21
Tabela 3: Tabela de controle dos animais.....	22
Tabela 4: Tabela estatística da variável raça	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Eventos sequenciais de invasão de uma célula hospedeira.....	4
Figura 2: Os três estágios infecciosos do <i>T. gondii</i>	4
Figura 3: Esquema de um cisto tecidual de <i>Toxoplasma gondii</i>	5
Figura 4: Ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i> em gato.....	6
Figura 5: Vias de transmissão.....	7
Figura 6: Ilustração ELISA indireto e ELISA sanduíche	13
Figura 7: Material para realização do teste de MAT.	18
Figura 8: Identificação dos tubos eppendorff.	18
Figura 9: Disposição do antígeno nos respectivos poços.	19
Figura 10: Plastificação da Placa.....	20
Figura 11: Leitura da Placa.....	21

SUMÁRIO

1INTRODUÇÃO	1
2REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Taxonomia e Fases Infectantes.....	3
2.2 Ciclo de Vida e Transmissão do <i>Toxoplasma gondii</i>	5
2.3 Epidemiologia.....	7
2.4 Sinais Clínicos	10
2.5 Diagnóstico	11
2.5.1 Hematologia e bioquímica sérica	11
2.5.2 Imunohistoquímica e histopatologia	11
2.5.3 Bioensaio em tecidos de camundongo.....	11
2.5.4 Sorologia.....	12
2.5.4.1 ELISA indireto	13
2.5.4.2 ELISA sanduíche.....	13
2.5.4.3 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....	13
2.5.4.4 Teste de aglutinação em látex (LAT).....	14
2.5.4.5 Teste de aglutinação modificado (MAT)	14
2.5.4.6 Reação Sabin-Feldman (RSF)	14
3TRATAMENTO	14
3.1 Prevenção	15
4TOXOPLASMOSE EM CÃES	15
4.1 Transfusão Sanguínea.....	16
5MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1 Local de Estudo	17
5.2 Animais e Amostras Utilizadas.....	17
5.3 Sorologia para Detecção de <i>Toxoplasma gondii</i>	18
5.3.1 Preparo das Amostras de Soro.	18
5.3.2 Preparo do Antígeno	18
5.3.3 Preparo da Placa de MAT.	19
5.3.4 Controles Positivos.	19
5.3.5 Controle Negativo.....	19
5.3.6 Leitura da Placa.....	20
5.3.7 Análise Estatística.....	21
6RESULTADOS	21
6.1 Fatores de Risco.....	22
7DISCUSSÃO	22
8CONCLUSÃO.....	27
9REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose mundialmente disseminada que tem como agente etiológico, o protozoário intracelular obrigatório denominado *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908), capaz de infectar uma ampla gama de hospedeiros, incluindo mamíferos, aves e humanos (Silva *et al.*, 2006). Sua transmissão ocorre por diversas vias, sendo a ingestão de cistos presente em carnes malcozidas sua principal fonte de infecção. Ela ainda pode ocorrer pela ingestão de oocistos em alimentos mal lavados, por via transplacentária durante a gestação, por transplante de órgãos ou através de transfusões com sangue contaminado (Dubey, 2006).

Os sinais clínicos da toxoplasmose são variáveis e muitas vezes inespecíficos, isto é, similares a diversas doenças e sua manifestação depende do *status* imunológico do hospedeiro. Em animais e humanos saudáveis, a infecção pode passar despercebida, por isso, acredita-se que a doença seja muitas vezes subdiagnosticada. Já em pacientes imunocomprometidos e nos casos de infecção congênita, a toxoplasmose pode trazer sérias complicações de saúde. Dentre suas manifestações clínicas, podemos observar: alterações de sistema nervoso, reprodutivo, digestório, respiratório, ocular, muscular, hematopoiético, hepático e cardiovascular, dependendo do sítio de infecção do parasito. A doença tem sua manifestação normalmente secundária a infecções virais, tal qual a cinomose (Ferreira *et al.*, 2016).

O diagnóstico da infecção costuma ser realizado através da análise dos sintomas e de exames complementares, como: citologia, microscopia, testes sorológicos, exames de fezes e exames laboratoriais como hemograma e bioquímica. Muitos desses exames, ainda que não específicos, auxiliam no diagnóstico da doença.

Ainda que não seja possível eliminar os cistos do parasito quando nos tecidos, o tratamento tem como objetivo controlar a infecção aguda por taquizóitos e reduzir os efeitos da doença nos animais afetados. De acordo com os sinais clínicos, alguns pacientes podem necessitar de tratamentos mais intensivos com medicações de suporte e fluidoterapia.

Com a maior longevidade dos animais de estimação proporcionada pelos avanços da medicina veterinária e a maior proximidade do convívio entre animais e humanos, houve um aumento na incidência de doenças que podem ser transmitidas entre espécies. Por isso, o controle de zoonoses passou a ser pauta de muitos estudos de diversas naturezas.

Dentro desse avanço da medicina veterinária e da preocupação em promover qualidade de vida e longevidade aos animais de estimação, a transfusão sanguínea tem sido uma alternativa cada vez mais frequente para aumentar a sobrevivência de animais que necessitam de terapia com o uso de hemocomponentes. E, por questões de segurança, os animais que doam sangue são submetidos à avaliação clínica e exames laboratoriais de triagem para serem avaliados quanto à sua aptidão como doadores de sangue. Nessa triagem, investiga-se a presença de patógenos que possam impedir a doação de sangue.

Por ser mundialmente disseminado e gerar sintomatologia similar à de outras doenças, pareceria óbvio que a detecção do *Toxoplasma gondii* estivesse presente, porém, o agente não vem sendo utilizado na rotina de triagem de animais doadores de sangue. Tal fato levanta a possibilidade de se utilizar métodos de detecção do patógeno em doadores, visto que a via hematogênica é comprovadamente eficaz para sua transmissão.

Apesar da relevância do tema e do amplo conhecimento acerca do parasito, por não se tratar de um exame de triagem nas doações de sangue há pouca pesquisa nessa direção. Esse estudo tem como objetivos, portanto, preencher essa lacuna de conhecimento, mapeando a incidência de *T.gondii* em cães doadores de sangue, a fim de estabelecer a prevalência da doença no local de estudo, podendo no futuro ser extrapolado para outras áreas. Por não se tratar de um exame obrigatório, acredita-se que a toxoplasmose é subdiagnosticada e tal fato contribui para a delimitação de um panorama epidemiológico distorcido, favorecendo sua disseminação.

É também objetivo da pesquisa, estabelecer o nível de relevância da detecção desse agente etiológico nos exames de triagem de doadores, a fim de assegurar a saúde dos animais receptores.

Assim espera-se que esta pesquisa contribua para avaliar o risco de transmissão da doença para cães, e indiretamente, para humanos, uma vez que entender a incidência do *Toxoplasma gondii* em cães ajuda a elaborar estratégias de monitoramento, controle e prevenção da doença, contribuindo para a saúde pública e bem-estar animal. Além de fornecer dados que ajudem a aumentar a segurança transfusional, uma vez que cães doadores de sangue desempenham um papel crucial no salvamento de vidas.

Para comprovação das hipóteses levantadas pelo presente estudo e a fim de cumprir os objetivos propostos, foi realizada a análise sanguínea de amostras de soro de cães doadores de um banco de sangue do município do Rio de Janeiro para detecção de *T.gondii*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Toxoplasma gondii (Nicolle & Manceaux, 1918), parasito causador da Toxoplasmose, é um dos protozoários intracelulares que afetam o ser humano e os animais (Dubey, 1985; Davidson, 2000), não havendo distinção de raça ou sexo. Para se ter uma ideia, estima-se que 70 a 95% da população humana tenha anticorpos para o agente (Silva & Silva, 2016). Por essa característica, é considerado um patógeno de extrema relevância para a saúde pública, especialmente no que tange o risco que representa para pacientes imunossuprimidos, como os portadores do vírus da imunodeficiência humana - HIV/Aids (Jones & Dubey, 2014).

O termo *Toxoplasma* advém do grego *toxon* (arco) e *plasma* (molde), devido à sua morfologia arqueada (figura 2). Já o termo *gondii* refere-se aos roedores africanos popularmente conhecidos como gundi, primeiro hospedeiro descrito por Nicolle e Manceaux, em 1909 albergando o parasito.

Segundo a Organização Mundial Para a Saúde Animal – OIE (2008), nos últimos anos houve um aumento no convívio entre homem e animais, demonstrando a importância dos estudos sobre infecções zoonóticas (Jones & Dubey, 2014). A relevância dada aos animais de estimação fica evidente nos números que comprovam o crescimento da indústria do setor, que, cada vez mais, se desenvolve para oferecer aos proprietários de cães e gatos uma ampla variedade de produtos e serviços (Assumpção, 2010). A medicina veterinária caminha em paralelo, avançando consideravelmente para permitir que os animais de estimação ganhem qualidade de vida e desfrutem de uma vida mais longa. No entanto, esse convívio íntimo e progressivo entre humanos e animais aumenta a necessidade de uma medicina veterinária eficiente, que inclua o estudo e o controle de doenças em cães (Galvão et al., 2014).

Embora os felídeos sejam os hospedeiros definitivos do *T.gondii*, responsáveis pela eliminação de oocistos (forma infectante para o hospedeiro intermediário), a toxoplasmose em cães também se torna relevante uma vez que eles podem atuar como vetores mecânicos na transmissão de oocistos esporulados para seres humanos (Ullmann *et al.*, 2008; Leal & Coelho, 2014).

2.1 Taxonomia e Fases Infectantes

Sumário taxonômico (Current *et al.*, 1990; Cavalier-Smith, 1993):

Império: Eukariota Cavalier-Smith, 1993

Reino: Protozoa Owen, 1858

Filo: Apicomplexa Levine 1970

Classe: Sporozoa Leuckart, 1879

Subclasse: Coccidiania Leuckart, 1879

Ordem: Eucoccidiorida Leger & Doboscq, 1910

Subordem: Eimeriorina Leger, 1911

Família: Sarcocystidae Poche, 1913

Subfamília: Toxoplasmatinae Biocca, 1956

Gênero: *Toxoplasma* (Nicolle & Manceaux, 1908)

Espécie: *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908)

No Brasil, *T. gondii* foi descrito pela primeira vez em coelhos de laboratório em julho de 1908. Em outubro do mesmo ano, Nicolle e Manceaux observaram o parasito em um pequeno roedor africano (*Ctenodactylus gundi*), mas o denominaram *Leishmania gondii*. Somente no ano seguinte, os pesquisadores corrigiram seu nome para *Toxoplasma gondii*. E conforme iam descobrindo novos hospedeiros, a lista de espécies aumentava. Porém em 1939, Sabin concluiu que todas as espécies até então encontradas não eram imunologicamente distintas, havendo, portanto, uma única espécie: *T. gondii* (Molinari, 2013).

O filo Apicomplexa, onde *T. gondii* está inserido, é caracterizado por parasitos intracelulares obrigatórios que possuem o assim chamado complexo apical, estrutura composta por organelas especializadas na penetração da célula hospedeira. Dentre as estruturas formadoras do complexo apical, citam-se: Conóide, anel polar, microtúbulos subpeliculares, roptrias, micronemas e grânulos densos. Na Classe Sporozoa, encontramos os protozoários parasitas que produzem esporos ou formas de resistência durante seu ciclo de vida. Geralmente têm múltiplos hospedeiros para completar seu ciclo de reprodução, incluindo humanos, e família *Sarcocystidae*, encontramos os protozoários parasitas que produzem esporos ou formas de resistência durante seu ciclo de vida na musculatura do hospedeiro, sendo um protozoário próximo dos coccídios e plasmódios (Kawazoe, 2005; Rey, 2008; Hill & Dubey, 2016).

A toxoplasmose pode ser considerada a mais importante das coccidioses devido ao seu poder zoonótico (Colitz, 2005).

O parasito pode se apresentar de diversas formas, dependendo da sua fase de divisão celular. Ele pode assumir desde uma forma mais alongada e encurvada, tendo uma das extremidades mais atenuada que a outra, até uma forma mais ovalada (Rey, 2008).

Ainda segundo Rey (2008), o parasito ainda possui uma estrutura especial com capacidade invasora denominada: complexo apical. Essa estrutura é utilizada para fazer a

adesão e a penetração celular, através de um processo ativo conhecido como endocitose. Posteriormente, há a formação do vacúolo parasitóforo, estrutura que possui papel importante no mecanismo de invasão do parasita na célula hospedeira (Figura 1).

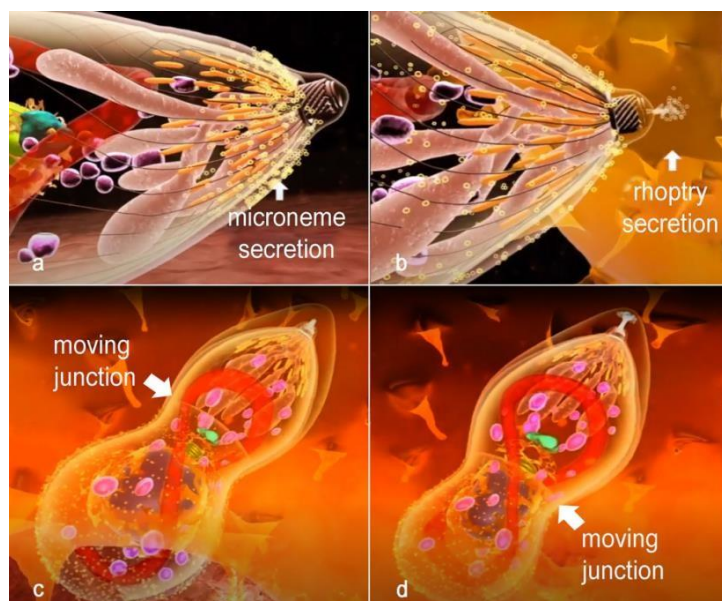


Figura 1: Eventos sequenciais de invasão de uma célula hospedeira. a) A secreção de micronema e a extrusão de conóides fazem parte da maquinaria de deslizamento. b) O parasito se liga à membrana da célula hospedeira e a secreção de proteínas do pescoço do roptria induz a deformação da célula hospedeira. c) e d) Uma junção móvel é estabelecida entre a célula hospedeira e a membrana do parasita no ponto de invasão. Progressivamente o parasita invade a célula hospedeira protegida no PV, da qual são excluídas as proteínas da célula hospedeira, bem como as proteínas da maquinaria de deslizamento. Fonte: Atitas *et al.*, 2020.

Em sua forma proliferativa, o *T. gondii* se apresenta como taquizoíto (do grego *takhys*, que significa rápido), apresentando um formato de meia-lua, com uma das extremidades mais fina e a outra extremidade mais arredondada (Dubey, 2008). A forma bradizoíta (do grego *bradys* que significa lento) foi proposta por Frenkel (1973) para descrever a forma do protozoário encistada nos tecidos (Figura 2).

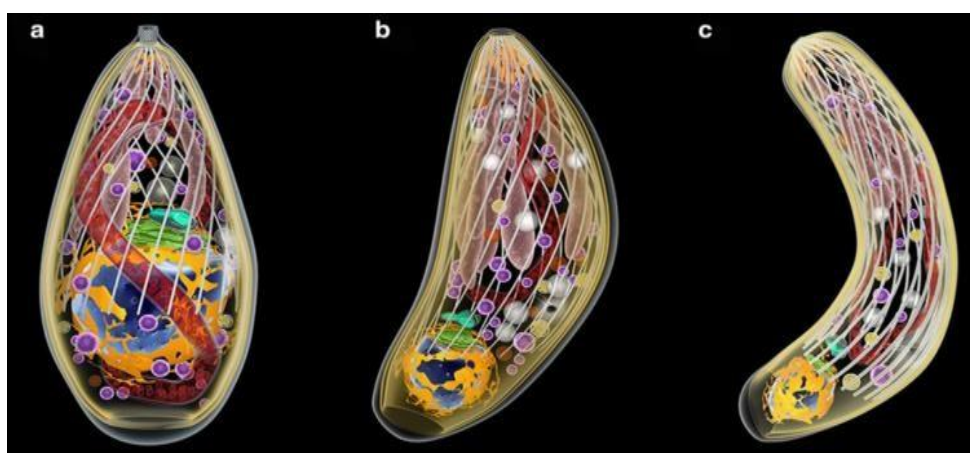


Figura 2: Os três estágios infecciosos do *T. gondii*: taquizoíto (a), bradizoíta (b) e esporozoíto (c). Fonte: Atitas *et al.*, 2020.

Na sua forma encistada, o cisto do *T. gondii* é geralmente esférico e apresenta uma membrana interna, própria do parasito, e uma externa, produzida pela célula parasitada. Dentro do cisto há um grande número de bradizoítos (figura 3). Dubey *et al.* (2008) propuseram que os cistos deveriam ser chamados de cistos teciduais para evitar confusão entre os oocistos e pseudocistos.

Os oocistos do *T. gondii* possuem a forma oval, medindo de 10 a 12 micrômetros de diâmetro. Além de apresentar em seu interior 2 esporocistos, cada um com 4 esporozoítos. Após o processo de esporulação, que ocorre entre o primeiro e o vigésimo primeiro dia, o parasito se desenvolve em dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos. A parede do oócito é constituída por múltiplas camadas extremamente resistentes, proporcionando uma proteção eficaz contra danos mecânicos e químicos. Isso permite que o parasito sobreviva por longos períodos, chegando a mais de um ano, especialmente em ambientes úmidos. (Robert-Gagneux & Dardé, 2012; Attias *et al.*, 2020).

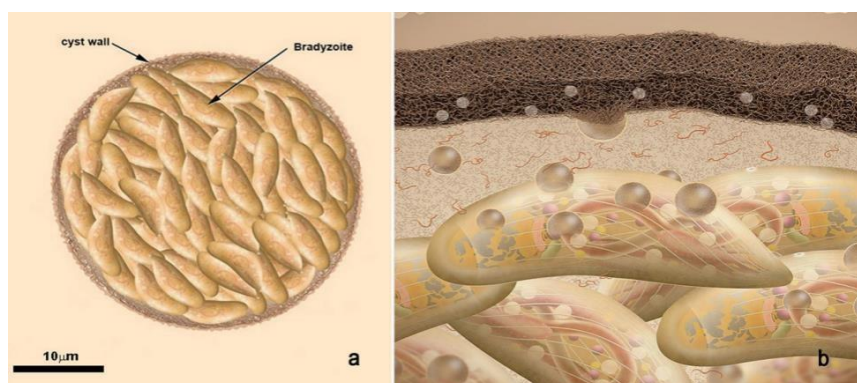


Figura 3: Esquema de um cisto tecidual de *Toxoplasma gondii*. a) A parede do cisto é espessa e filamentosa. Cada cisto pode conter centenas de bradizoítos. b) Uma visão ampliada do cisto tecidual. O cisto é circundado por uma membrana e abaixo dela é depositada uma espessa parede do cisto. Os componentes da parede do cisto, bem como da matriz do cisto, são secretados pelos bradizoítos. Fonte: Attias *et al.*, 2020.

2.2 Ciclo de Vida e Transmissão do *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii tem baixa especificidade para hospedeiros, tendo um ciclo heterógeno facultativo, isto é, poder ser transmitido para praticamente todos os animais de sangue quente, como aves e mamíferos, incluindo os seres humanos, que atuam como seus potenciais hospedeiros intermediários e reservatórios. A exceção se dá em relação ao seu hospedeiro definitivo: exclusivamente os felídeos (Moura *et al.*, 2009).

O ciclo do protozoário é complexo e abrange uma fase sexuada que ocorre nas células epiteliais do intestino delgado dos hospedeiros definitivos (felídeos) e outra fase assexuada nos hospedeiros intermediários que também acontece nos tecidos dos hospedeiros definitivos (Molinari, 2013; Cantonet *et al.*, 2015).

O protozoário possui tropismo por células do sistema fagocítico mononuclear, leucocitário e células parenquimatosas, isto quer dizer que o *T. gondii* é capaz de invadir qualquer célula do organismo parasitado, exceto os eritrócitos (Molinari, 2013).

Na fase rápida de multiplicação assexuada, os taquizoítos invadem qualquer célula nucleada por penetração ativa. E após a penetração, eles se multiplicam a tal ponto em que

ocorre ruptura celular, favorecendo a migração dos mesmos para outras células ou para o espaço extracelular. Por isso, nessa fase, podemos encontrá-los em líquidos biológicos antes de entrarem em outras células, como: na corrente sanguínea, urina, saliva e até mesmo no leite, por um período de duas semanas (Molinaro, 2013; Odilon *et al.*, 2015).

Já na fase lenta da multiplicação assexuada, ocorre a proliferação de bradizoítos no interior de cistos teciduais (Molinaro, 2013). A membrana que reveste o cisto vem da célula hospedeira, e por esse motivo, o sistema imune não o identifica como agente invasor (Nascimento *et al.*, 2022).

Até 1976, considerava-se que a formação de cistos teciduais era dependente da imunidade do hospedeiro. Estudos realizados por Dubey e Frenkel (1976) indicaram que bradizoítos e cistos de tecido são parte integrante do ciclo de vida de *T. gondii*, independente da imunidade de seu hospedeiro. Atualmente acredita-se que não existam cepas de *T. gondii* que não formem cistos teciduais. Contudo, tem-se conhecimento de que existam cepas mais formadoras de cistos que outras (Watts *et al.*, 2015)

Já a reprodução sexuada do parasito ocorre apenas no trato gastrointestinal dos felinos, com a eliminação de oocistos no ambiente que posteriormente vão esporular e se tornarão infectantes após 1 a 2 dias, dependendo da temperatura e umidade do ambiente (Weiet *al.*, 2016). Essa eliminação de oocistos no ambiente ocorre de 3 a 10 dias após a ingestão de cistos teciduais, 13 dias após a ingestão de taquizoítos e mais de 18 dias após a ingestão de oocistos (Hill & Dubey, 2016; Halonen & Weiss, 2013; Dubey, 2008) (figura 4).

Principalmente na primeira semana, os gatos desempenham o papel de disseminadores do parasito e liberam no ambiente uma grande quantidade de oocistos, que, quando esporulados no ambiente, contaminam o solo, a água e os alimentos, podendo se manter viável por meses ou anos (Dubey, 2010).

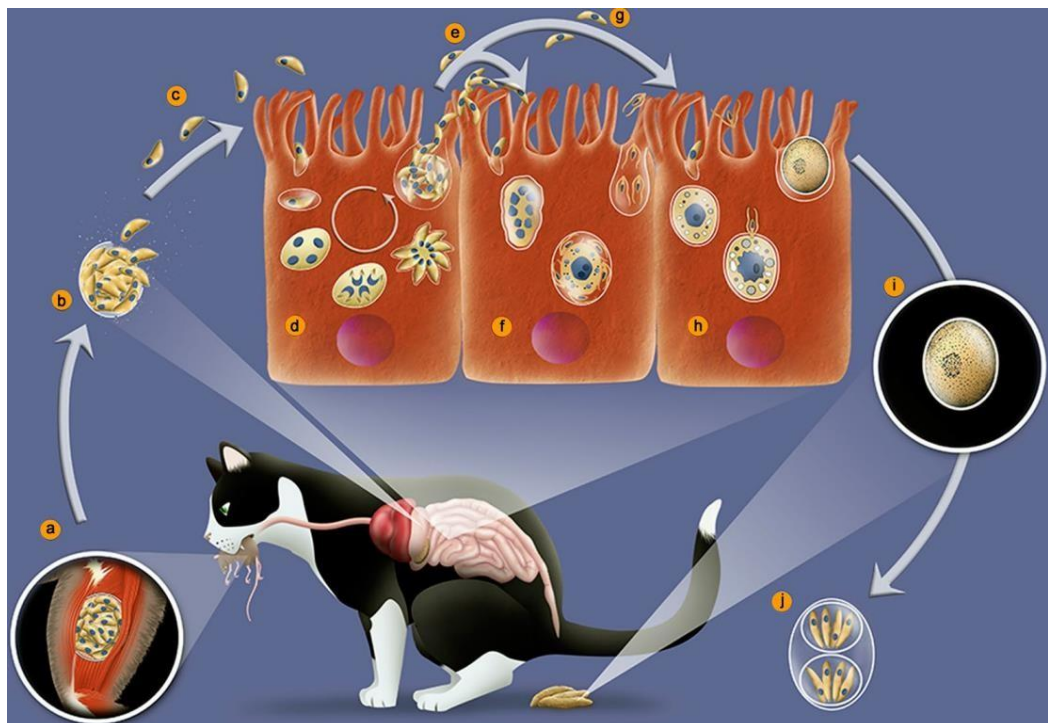


Figura 4: Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii* em gato. **a** Ingestão de presas contendo cistos teciduais. **b** A parede do cisto é digerida no estômago e intestinos, liberando bradizoítos. **c** Os bradizoítos invadem as células epiteliais do intestino. **d** Nos enterócitos, os bradizoítos dividem-se por esquizogonia dando origem aos merozoítos. **e** Os merozoítos diferenciam-se em

microgamontes ou macrogametas **f**. **g** A fertilização dá origem a um oocisto não esporulado excretado com fezes de gato **h**. **i** A esporulação ocorre e gera dois esporocistos com quatro esporozoítos cada **j**. Fonte: Portal Vet – Royal Canin

A infecção oral é a principal porta de entrada do parasito em carnívoros. Pode ocorrer através da predação, principal via de infecção em felinos ou pela ingestão de oocistos esporulados no ambiente (Odilon *et al.*, 2015). Em humanos, a transmissão por *Toxoplasma gondii* ocorre através da ingestão de frutas, legumes mal lavados e água não tratada contendo oocistos esporulados ou a ingestão de cistos teciduais, comumente encontrados em carnes cruas ou malcozidas (Souza & Belfort, 2014).

A transmissão também pode ocorrer por via transplacentária ou congênita (figura 5), manipulação de material infectado e acidentes laboratoriais (Kochanowsky & Koshy, 2018) ou ainda através de vetores, como insetos, vermes e também pelo leite (Dubey, 2010). Barbosa *et al.* (2014) destaca, ainda, a transmissão através de transplante de órgãos e por transfusão sanguínea. Desde a década de 70, se tomou conhecimento da possibilidade de transmissão do *Toxoplasma gondii* pelas bolsas de sangue, uma vez que o parasita é capaz de resistir no sangue refrigerado (Amorim, 2008).

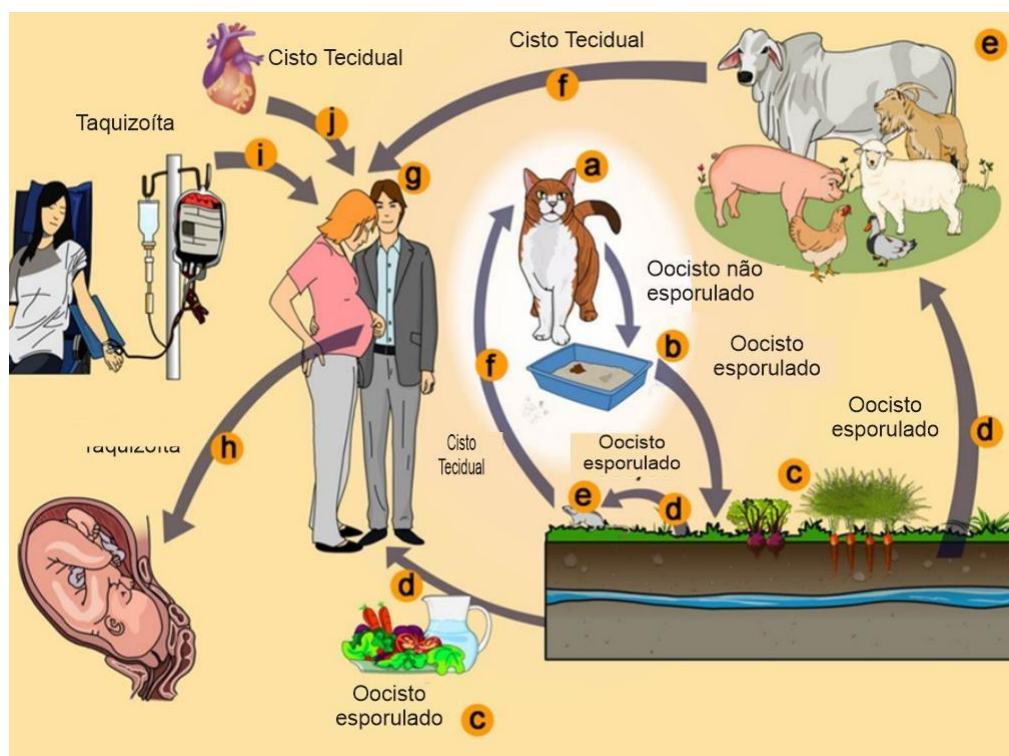


Figura 5: Vias de transmissão. **A:** Hospedeiro definitivo felino (gato). **B:** Oocistos não esporulados em fezes de gatos. **C:** Alimentos contaminados com oocistos esporulados. **D:** os oocistos podem ser ingeridos por hospedeiros intermediários através da água ou vegetais crus. **E:** hospedeiros intermediários (por exemplo, bovinos, ovinos, aves e suínos). **F:** Ingestão de cistos teciduais em carne crua. **G:** Hospedeiros intermediários (humanos). **H:** Taquizoítas transmitidos através da placenta ao feto. **I:** Transmissão por transfusão de sangue. **J:** transplante de órgãos. Fonte: Attias *et al.* 2020.

2.3 Epidemiologia

Como visto, *T. gondii* é um parasito que abrange muitos hospedeiros e possui diversas vias de transmissão. Por isso, a toxoplasmose é uma doença cosmopolita, de ampla

distribuição geográfica e estima-se que pelo menos um terço da população esteja infectada (Aguirre *et al.*, 2019). No Brasil, 50 a 80% da população adulta apresenta anticorpos anti-*T. gondii* (Molinaro, 2013).

Diversos fatores, como clima, localização geográfica, condições higiênico-sanitárias e hábitos culturais e alimentares da população estudada, estão diretamente ligados à soropositividade para *T. gondii* (Dong, 2018). Em países de clima tropical e com recursos limitados em saúde e saneamento básico, como é o caso do Brasil, observa-se uma taxa elevada de soropositividade. Valores chegam a 32% em crianças de 0 a 5 anos, 59% em crianças de 6 a 10 anos e 5% em adolescentes de 11 a 15 anos (Dubey *et al.*, 2012).

Segundo Dubey (2010), a infecção por *T. gondii* por meio da água vem ganhando importância desde o surto que ocorreu em Santa Maria, tornando-se um marco desse registro. No mês de agosto de 2018, a Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (2018) divulgou um fato preocupante: um surto de toxoplasmose atingiu o Município de Santa Maria (RS). Nessa ocasião, foram confirmados nada menos que 902 casos dessa doença, enquanto outros 515 ainda estavam sob investigação. De acordo com os especialistas, esse surto se tornou o maior já registrado no mundo em relação à toxoplasmose em humanos, superando até mesmo o ocorrido em Santa Isabel do Ivaí (PR). Cerca de 20% das pessoas infectadas pelo *T. gondii* durante o surto em Santa Maria poderiam enfrentar problemas de visão. Até o momento da divulgação deste boletim epidemiológico, ainda não se sabia com precisão qual era a fonte de contaminação que havia exposto a população de Santa Maria, mas suspeitava-se do cultivo hidropônico de hortaliças e da Estação de Tratamento de Água da Companhia Rio Grandense de Saneamento. Para evitar novos casos, a Secretaria de Saúde de Santa Maria, o Estado do Rio Grande do Sul e a União estabeleceram medidas preventivas a serem adotadas na região, tais como o consumo de água que passou pelo processo de fervura, a não ingestão de carnes cruas ou malcozidas, a limpeza de reservatórios de água e a não ingestão de hortaliças cruas provenientes da cidade.

O número de infectados em Santa Maria chegou a ultrapassar o ocorrido em Santa Isabel do Ivaí no Paraná em 2002 (SBMT, 2018; Almeida, 2011), que foi de 135 casos confirmados, houve um surto de toxoplasmose nos meses de novembro de 2001 e janeiro de 2002, em consequência da contaminação de reservatórios de água do Município com oocistos de *T. gondii*. No período mencionado, a cidade não dispunha de um sistema abrangente de tratamento de água que incluísse coagulação, sedimentação e filtração antes da distribuição para a comunidade. Essas etapas são cruciais para remover a maioria dos oocistos de *T. gondii* e cistos de *Giardiaspp.* da água. De acordo com Almeida *et al.*, (2011) a água fornecida à população era captada de poços artesianos e recebia apenas tratamento com cloro, o qual não é capaz de inativar os oocistos e cistos dos parasitas mencionados (Almeida *et al.*, 2011).

No Brasil, a falta de tratamento da água tem sido relatada como uma importante fonte de infecção em regiões com toxoplasmose endêmica e ocorre majoritariamente entre a população de classe socioeconômica baixa (Souza&Belfort, 2014). Tal fato também justifica sua alta incidência entre os vegetarianos e herbívoros, já que essa mesma água contaminada é usada para irrigar as plantações (Dubey, 2010).

Em estudos recentes sobre *T. gondii* em cães a nível global, Dubey *et al.* (2020) observaram uma ampla variação nas taxas de ocorrência relatadas em estudos durante o período de 2009 a 2020, variando de 1,9% a 97%. No Brasil, esses números variaram de 6,7% a 88,5%. Observou-se que, apesar de vários estudos terem sido conduzidos em território brasileiro, poucos incluíram mais de 300 cães. Contudo, notaram que as taxas de ocorrência

foram consistentemente mais altas em comparação aqueles realizados em outras partes do mundo.

Em 2018, um estudo realizado na China revelou a prevalência e os fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* em animais de produção. Estima-se que a soropositividade em animais como ovinos, suínos e bovinos seja de 23,7%. Esse percentual pode estar relacionado à contaminação por oocistos esporulados presentes na água dos três rios que cortam e abastecem a população animal e humana em todo o território chinês (Dong, 2018).

Nos últimos 20 anos, os inquéritos soropidemiológicos em cães realizados no estado de São Paulo apresentaram uma grande variação nas amostras, incluindo diferenças no número de cães, presença ou ausência de problemas neurológicos, ambiente de residência dos cães (rural ou urbano) e se a coleta de dados estava associada a campanhas de vacinação, entre outras características diversas. Nestes estudos, as taxas de ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* variaram de 5,1% a 50% (Silva *et al.*, 2010; Aguiar *et al.*, 2012; Langoni *et al.*, 2012, 2013; Paulanet *et al.*, 2013; Zanette *et al.*, 2014; Seabra *et al.*, 2015; Gimenes *et al.*, 2020; Sev  et *et al.*, 2020).

Um estudo recente na região metropolitana do Rio de Janeiro (Arruda *et al.*, 2021) analisou cães em domicílios de várias áreas da cidade. A prevalência encontrada foi de 34% (136/400), 3 vezes maior do que na região metropolitana de São Paulo, onde também usaram o teste diagnóstico de RIFI (>16). Ainda assim, Kawazoe (2005) relata que a distribui  o do parasito ocorre de maneira desigual pelo mundo porque alguns fatores são capazes de influenciar sua prevalência, como: os hábitos socioculturais, fatores climáticos, composi  o do solo, presença ou não de matéria orgânica, clima, umidade e temperatura, além da incidência solar. Molinaro (2013) explica que a idade vem sendo diretamente associada    prevalência da infec  o, uma vez que com o aumento da faixa etária aumentam-se as chances de contato com o parasito. E que não há diferenças estatísticas entre a incidência de casos na zona rural e urbana. Os animais dos canis são jovens, a maioria entre 1 e 6 anos. Esse estadiamento recentemente definido, com o estudo sobre os estágios de vida de um cachorro, que ao invés de tentar equivaler a idade humana, foi definida estágios referentes a idade, tamanho, estilo de vida, estado de saúde e raça do cão. Estas diretrizes abordam as diferentes fases da vida que requerem abordagens distintas para os cuidados preventivos. Os períodos de desenvolvimento fisiológico e comportamental não começam e terminam abruptamente, mas ocorrem gradualmente. Dentro de cada categoria de est  dio de vida, também haverá varia  es que exigem julgamento clínico.    medida que a varia  o aumenta nos últimos anos, as estimativas de idades inclusivas não são uniformes e, portanto, não são propostas para as fases da vida de adultos maduros e idosos (Creevy, 2019).

Tabela 1: Classifica  o etária em cães. Tradu  o livre de AAHA Canine Life Stage Guidelines, 2019

Estágio	Duração
Filhote	Do nascimento até o fim do crescimento rápido – entre 6 a 9 meses, variando de acordo com a raça e tamanho.
Adulto Jovem	Do fim do crescimento rápido até a total maturidade física e social - que ocorre na maioria dos cães por volta dos 3 a 4 anos.
Adulto Maduro	Do fim da maturidade física e social até os últimos 25% da expectativa de vida (dependente da raça e do tamanho).
Sênior	Os últimos 25% da expectativa de vida até o seu fim.
Geriátrico	Fase final da vida (depende de doenças específicas).

Estudos epidemiológicos também indicam a prevalência do *Toxoplasma gondii* também depende da concentração de felídeos, uma vez que estes são necessários no ciclo de vida do parasito, já que são os únicos capazes de eliminar as formas infectantes do protozoário, os oocistos, contaminando assim reservatórios de água, solo e alimentos (Jones&Dubey, 2014). Por isso, Molinaro (2013) afirma que uma menor prevalência de toxoplasmose tem sido encontrada em regiões frias ou áridas, onde há baixa densidade de felídeos e menor sobrevivência de oocistos no solo. A pesquisadora comprova o fato pela ausência de relatos de toxoplasmose em ilhas do Pacífico onde não existem gatos, por exemplo.

Toxoplasma gondii é geralmente encontrado em regiões com altas temperaturas e úmidas, permitindo uma maior sobrevivência dos oocistos no ambiente (Kawazoe, 2005) e o Brasil apresenta a maior prevalência de toxoplasmose congênita em humanos no mundo (Jones&Dubey, 2014).

2.4 Sinais Clínicos

O curso clínico da toxoplasmose varia desde sua forma subclínica (assintomática) em pacientes imunocompetentes, até formas generalizadas da doença que podem progredir para o óbito (Molinaro, 2013).

Dubey colaboradores (2010) e Silva (2016) relatam que o desenvolvimento de sinais da doença costumam estar associados ao estresse crônico, capaz de exercer efeito imunossupressor no organismo, podendo a manifestação da doença, portanto, se tornar consequência de enfermidades diversas, como: luxações, fraturas, helmintos, infecções bacterianas, virais, nematódeos e outras doenças concomitantes, além da utilização de medicações imunossupressoras, dando espaço para o aparecimento de doenças oportunistas. Giardiet al. (2014), por exemplo, sugere que a imunossupressão causada pelo vírus da cinomose pode resultar na reativação de uma infecção latente de *Toxoplasma gondii*, devido ao rompimento de cistos dormentes. Miranda et al. (2011), inclusive, relata o caso de um cão com toxoplasmose e comorbidades confirmadas para erlichiose, cinomose e babesiose.

Odilon et al. (2015) reforça essa ideia quando afirma que é comum que a doença se manifeste principalmente em animais jovens, que estão com o sistema imune imaturo, ou mais velhos, por estarem com a imunidade comprometida.

A toxoplasmose causa enfermidades multissistêmicas cujas manifestações clínicas muitas vezes acabam sendo inespecíficas, pois se assemelham com diversas doenças (Ferreira *et al.*, 2016). Colitz (2005) vai ao encontro de Ferreira *et al.* (2016) quando afirma que a toxoplasmose, por se enquadrar nas coccidioses, apresenta sinais clínicos inespecíficos, como: diarreia, toxemia e/ou neuropatias, podendo estar ou não associado a sinais respiratórios. Ele ressalta, no entanto, que a doença pode evoluir para quadros graves e até mesmo o óbito.

Dentre os principais sinais clínicos em cães, podemos observar: alterações respiratórias, digestivas, além de alterações no metabolismo da bilirrubina. Clinicamente os animais infectados apresentam apatia, inapetência, emagrecimento, dispnéia, mucosas pálidas ou ictericas, febre, vômito, além de insuficiência renal crônica (Pereira *et al.*, 2022). Ferreira *et al.* (2016) acrescenta que as alterações clínicas podem envolver diversos sistemas, desde o nervoso até o respiratório e muscular, podendo ser observados também: secreção ocular, alterações cutâneas como pústulas, hiperqueratose em coxins e pelos quebradiços.

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico do *T.gondii* é de grande importância na medida em que a doença pode se manifestar sob sinais clínicos inespecíficos, podendo ser facilmente confundida com outras doenças infecciosas. O diagnóstico costuma ser feito cruzando-se a sintomatologia com exames complementares que auxiliam nesse diagnóstico, como microscopia, testes sorológicos, exames de fezes e hematológicos (Odilon *et al.*, 2015).

2.5.1 Hematologia e bioquímica sérica

Por se tratar de sinais pouco específicos, comuns a diversas enfermidades, a realização de estudos que visem às alterações laboratoriais em animais positivos para *T. gondii* é importante para que essas análises sejam utilizadas como ferramentas de auxílio diagnóstico.

Greene (1998) demonstrou a ocorrência das seguintes alterações hematológicas e bioquímicas em animais com toxoplasmose: anemia não-regenerativa, linfocitose, eosinofilia, monocitose, neutropenia, leucocitose neutrofilica, maior atividade das enzimas fosfatase alcalina, creatino-quinase, lipase e alanino-aminotransferase. Também foram encontrados animais com hiperbilirrubinemia, hiperproteinemia e hipoalbuminemia (Dubey *et al.*, 2009; Sousa, 2015).

2.5.2 Imunohistoquímica e histopatologia

A imunohistoquímica tem como objetivo identificar os antígenos de agentes infecciosos presentes nos cortes histológicos. Essa técnica é extremamente útil tanto para o diagnóstico de doenças infecciosas quanto para o diagnóstico de tumores, através da detecção de marcadores como receptores, genes e enzimas (Rezende *et al.*, 2006).

2.5.3 Bioensaio em tecidos de camundongo

De acordo com as pesquisas de Dubey (2010), o Bioensaio em Tecido de Camundongos é um teste que consiste na preparação e inoculação de tecidos e fluidos corporais de animais infectados por *T. gondii* nos camundongos. Após isso, os camundongos são eutanasiados e seus órgãos e tecidos são submetidos a análises histológicas. O autor relata em seu livro “Toxoplasmosis of Animals and Humans” que utiliza essa técnica em seu laboratório, pois é um teste de execução simples. A contaminação ambiental desempenha um papel fundamental na ocorrência da infecção por esses parasitas. No entanto, a eliminação fecal de formas infectantes desses coccídios ocorre por um período curto na vida do gato infectado, o que torna a investigação epidemiológica por meio do levantamento de oocistos nas fezes pouco eficiente (Dubey *et al.*, 1995). Por isso, o inquérito sorológico se mostra um bom indicador de infecção por *T. gondii*, uma vez que gatos soropositivos eliminam oocistos pelas fezes, provavelmente (Dubey e Thulliez, 1989). Dessa forma, a população residente em áreas com maior déficit de recursos e investimentos em saneamento e saúde, seja ela humana ou animal, é mais suscetível aos fatores de risco para infecção por esses dois protozoários.

2.5.4 Sorologia

A pesquisa direta do protozoário em material biológico, além de difícil, pode ser onerosa e requer tempo, por isso os métodos sorológicos vêm sendo mais utilizados (Molinaro, 2013).

Diversos exames sorológicos foram desenvolvidos para detectar diferentes classes de anticorpos ou antígenos do *Toxoplasma gondii* (Odilomet. *al.*, 2015). Segundo Oliveira-Gomes (2004), as reações sorológicas utilizadas na detecção do *Toxoplasma gondii* são: imunofluorescência indireta (IFI), imunoenzimáticos (fluorimétrico ou ELISA), fixação do complemento (FC) e inibição da hemaglutinação (IHA).

Muitos testes sorológicos se baseiam na pesquisa de anticorpos específicos anti-*T. gondii*, sobretudo imuno globulinas IgG, IgM, IgA e IgG (Molinaro, 2013). Enquanto os anticorpos IgA são os primeiros a serem produzidos no organismo e podem permanecer por vários meses, tornando-se assim um marcador da infecção aguda, o IgM consegue ser detectado após uma semana da infecção até aproximadamente um mês, que é quando a titulação começa a declinar. No sexto mês já não são mais detectados (Silva, 2022). Porém, um número limitado de testes para IgM foram validados para uso veterinário. O teste referência, considerado padrão ouro, que é o de Reação de Sabin-Feldman, não é mais realizado na maioria dos laboratórios veterinários (e humanos), pois necessita de taquizoítos vivos (Rovid, 2017).

Títulos de IgM ou títulos crescentes de IgG podem ajudar a distinguir infecções recentes e antigas, e são sugestivas de toxoplasmose quando os sinais clínicos são também consistentes. No entanto, a interpretação dos testes pode ser complicada pela persistência ocasional de IgM toxoplasma-específica por meses ou anos (ROVID, 2017).

Atualmente, o Elisa e suas variações são os métodos mais utilizados para o diagnóstico da toxoplasmose (Molinaro, 2013). KLD *et.al* (2021) reitera que entre todos os testes, o ELISA parece ser o teste mais fiável, prático, econômico e amplamente utilizado para a detecção de exposição a *T. gondii* em animais. Além de utilizar um pequeno volume de

amostra, os ELISAs podem diferenciar entre classes de imunoglobulinas e são, portanto, úteis na determinação da fase da infecção.

A tecnologia de ELISA pode ser utilizada tanto para detecção de antígeno como de anticorpo do *Toxoplasma gondii* (Liu, Q *et al.*, 2015).

2.5.4.1 ELISA indireto

O ELISA indireto utiliza dois anticorpos: o primário e o secundário. Inicialmente, a amostra é preparada com o anticorpo primário que possui certas especificidades com o antígeno. Caso esse esteja presente na amostra, irá se ligar ao anticorpo, formando o complexo antígeno-anticorpo (figura 9). Este, por sua vez, irá se ligar ao anticorpo secundário junto com uma enzima, que originará uma reação de cor, permitindo assim a avaliação (Liu, Q *et al.*, 2015).

2.5.4.2 ELISA sanduíche

No ELISA sanduíche, a amostra é revestida por anticorpos de captura, impedindo assim que haja outros pontos de ligação. Em seguida é adicionada a amostra de interesse e, caso tenha o antígeno específico, este vai se ligar no anticorpo de captura, formando um complexo antígeno-anticorpo (figura 6), que estará ligado a uma enzima, modificando o substrato e originando a reação de cor (Liu, Q *et al.*, 2015).



Figura 6: Ilustração ELISA indireto e ELISA sanduíche. Fonte: Abbas, 2015.

2.5.4.3 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

A fim de realizar a RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta), é necessário realizar uma incubação dos taquizoítos mortos juntamente com soro e anticorpos de detecção. Além disso, acrescenta-se IgG anti-espécie (como anti-*T. gondii*, por exemplo) marcado com fluoresceína. A visualização dos resultados é feita por meio de um microscópio de fluorescência. No entanto, é importante ressaltar que esse teste apresenta algumas desvantagens, como a necessidade de utilizar conjugados específicos e de se ter um microscópio adequado para a leitura e interpretação dos resultados da sorologia. Além disso, existe a possibilidade de ocorrer reações cruzadas, conforme apontado por Dubey (2010).

2.5.4.4 Teste de aglutinação em látex (LAT)

Neste teste sorológico, o antígeno é cuidadosamente revestido em látex, e quando o soro testado é adicionado, é possível visualizar um padrão de aglutinação. Este teste é de execução descomplicada e não requer equipamentos especiais para sua realização. No entanto, é fundamental aprimorar sua sensibilidade para a realização de testes sorológicos em animais (Dubey, 2010).

2.5.4.5 Teste de aglutinação modificado (MAT)

Em animais, anticorpos para o *T. gondii* são frequentemente detectados com testes de aglutinação - hemaglutinação indireta, aglutinação de látex, aglutinação modificada/MAT (Rovid, 2017).

O Teste de Aglutinação Modificada (MAT) foi proposto, a princípio, para o sorodiagnóstico da toxoplasmose humana (Desmonts, 1980 apud AFSSA, 2005). É um teste que possui várias vantagens em relação aos outros, como: boa sensibilidade e especificidade, além da facilidade para a realização da técnica e possibilidade de realização em diversas espécies de animais (Dubey, 2002). Este teste detecta somente anticorpos do tipo IgG do soro. Ocorre então a aglutinação dos taquizoítos fixados aos anticorpos presentes, formando uma espécie de teia, indicando um teste positivo para presença de anticorpos (Odilom, 2015).

2.5.4.6 Reação Sabin-Feldman (RSF)

De acordo com as pesquisas realizadas por Dubey (2010), o teste de Reticulocitose Sorológica Fetal (RSF) é considerado o método mais confiável e definitivo para o diagnóstico da toxoplasmose em seres humanos. Essa abordagem é altamente específica, pois não apresenta reações cruzadas com outros microrganismos, com exceção do coccídio *Hammondia hammondi*. No entanto, é importante ressaltar que a execução desse teste é complexa e perigosa, pois envolve o uso de cepas vivas de taquizoítos virulentos. Portanto, não é recomendado o uso desse teste para a investigação do *T. gondii* em animais (Dubey, 1997).

3 TRATAMENTO

O tratamento é realizado com o objetivo de controlar a infecção por taquizoítos e, em conjunto, diminuir a sintomatologia dos animais acometidos, uma vez que não é possível a eliminação dos cistos teciduais. Em casos de felídeos, quando se detecta o *T. gondii* no período de eliminação, o que é raro, faz-se o tratamento para a diminuição de dias de eliminação, diminuindo assim a contaminação local (Odilomet.al., 2015).

No tratamento para toxoplasmose com sintomatologia ocular é costuma-se utilizar pirimetamina associada à sulfadiazina e prednisona que vai ser aplicada topicamente no olho, diminuindo a inflamação (Hill & Dubey, 2014).

Odilome colaboradores (2015) alerta que em casos mais graves, se necessário, deve-se instituir um cuidado mais intensivo, com tratamento assistido à base de fluidoterapia e fármacos de suporte, de acordo com a sintomatologia de cada indivíduo. Os fármacos mais

utilizados, segundo Sousa (2015), são: sulfadiazina + trimetoprim, 15mg/kg, VO, BID, por 4 semanas ou clindamicina, 3-13mg/kg, VO/IM, TID, por 2-6 semanas.

Com o tratamento, os sinais clínicos da toxoplasmose tendem a sanar em torno de 2 a 4 dias. Com a administração desses fármacos, porém, o tratamento pode não ser eficiente se o sistema nervoso já estiver acometido. Nesses casos, estamos diante de paciente de prognóstico reservado, principalmente se o mesmo ainda estiver imunossuprimido (Sousa, 2015).

3.1 Prevenção

De acordo com Souza e Belfort (2014) e Jones e Dubey (2014), a prevenção é feita através de medidas higiênicas, que devem ser aplicadas sempre, como:

- Não ingerir carne crua ou malcozida;
- Cozinhar adequadamente os alimentos (67° C por 10 minutos)
- Consumir carnes que foram congeladas previamente (o congelamento a -18° C por sete dias elimina a maioria dos cistos teciduais)
- Higienizar verduras e legumes;
- Lavar, com sabão e água, os utensílios de cozinha que por ventura tenham entrado em contato com carnes cruas
- Não ter contato com fontes de água não tratada, fazendo ingestão apenas de água filtrada;
- A gestante deve evitar manipular terra ou areia e cuidados com o jardim, mas se for fazê-lo deve usar luvas e lavar as mãos após a manipulação;
- Trocar a caixa de areia dos felinos diariamente, sempre higienizando bem as mãos (após o procedimento) com sabão e água;
- Utilizar luvas e máscara caso mexa com jardinagem;
- Não alimentar os gatos com carne crua, vísceras ou ossos.

Odilome colaboradores (2015) ainda acrescentam que é recomendado deixar os gatos domésticos no interior das residências, a fim de minimizar o contato com o meio externo e o instinto de caça.

4 TOXOPLASMOSE EM CÃES

A toxoplasmose canina foi relatada pela primeira vez em 1910, na Itália, em um cão que apresentava sinais clínicos de fraqueza, emagrecimento, anorexia, desidratação, anemia, atrofia muscular, diarreia, êmese e dispneia (Mello, 1910). Em 1911, foi diagnosticado no Brasil um cão com organismos viáveis com características de *Toxoplasma gondii*. A identificação foi realizada através do exame de necropsia com avaliação de pulmões, baço, fígado, rins e medula (Carini, 1911). Desde então, a doença tem sido relatada em cães (Dubey *et al.*, 2003).

A infecção por *T. gondii* em cães é de importância epidemiológica e clínica, uma vez que os humanos podem ser infectados ao acariciar cães que rolaram em fezes ou até mesmo comeram fezes de gatos com oocistos esporulados (Lindsay *et al.*, 1997). Desse modo, o cão pode transmitir a doença mecanicamente para o humano, através da superfície corporal, assim como boca e patas (Enriquez *et al.*, 2019).

Acrescenta-se a isso, o fato de que os oocistos ingeridos por cães podem passar intactos pelo sistema digestivo (Schareset *et al.*, 2005). Na China, há mais de 200 milhões de

cães que são destinados ao consumo de carne, tornando-se um potencial transmissor direto do parasito (Gao *et al.*, 2016).

Em cães a toxoplasmose não ocorre com tanta frequência como nos gatos. É importante ressaltar que as infecções clínicas por *T. gondii* em cães raramente ocorrem como uma doença primária, geralmente, está relacionada à imunossupressão e à ausência de vacinação contra o vírus da cinomose canina (CDV) (Dubey *et al.*, 2010). Nesses casos, a doença pode se manifestar de forma neurológica, apresentando sinais como convulsões, déficits de nervos cranianos, tremores, ataxia e paresia ou paralisia na encefalomielite (Patitucci *et al.*, 1997).

Há relatos de casos em que cães apresentaram paraparesia e tetraparesia, evoluindo para paralisia de neurônios motores inferiores e nódulos na medula espinhal, devido à infecção dupla por *Sarcocystis neurona* e *T. gondii*. Além disso, sensibilidade ao ruído, miosite com perda muscular e rigidez, e doença ocular com conjuntivite necrosante, uveíte anterior, endoftalmite e coriorretinite também foram observadas em cães com toxoplasmose (Gerhold *et al.*, 2014; Papini *et al.*, 2009; Migliore *et al.*, 2017).

De acordo com Webb *et al.* (2005) e Oliveira *et al.*, (2017), as manifestações cutâneas da toxoplasmose em cães estão geralmente associadas à imunossupressão após corticoterapia e transplante. Essas lesões cutâneas são caracterizadas por nódulos epidérmicos eritematosos, dermatite piogranulomatosa e necrosante, paniculite, vasculite multifocal e trombose vascular.

É fundamental ter atenção aos sinais clínicos e realizar um diagnóstico preciso da toxoplasmose em cães, especialmente em casos de imunossupressão (Patitucci *et al.*, 1997; Dubey *et al.*, 2010).

4.1 Transfusão Sanguínea

A transfusão sanguínea pode ser considerada um tipo de transplante, no qual o sangue e seus hemocomponentes são transferidos de um doador para o receptor, com o objetivo de corrigir uma deficiência ou disfunção. Ela é indicada com base no histórico e severidade de sinais clínicos apresentados pelo paciente, além de parâmetros clínicos e laboratoriais do animal. Ela pode ser aplicada em casos de hipovolemia, disfunções plaquetárias, deficiência de fatores de coagulação e hipoproteïnemia, além de anemia causada por hemorragia, distúrbio medular, eritropoiese ineficaz, anemia hemolítica auto-imune e neoplasia (Pereira & Ramalho, 2001; Brown & VAP, 2006).

Visando a segurança transfusional, alguns critérios devem ser levados em consideração, sobretudo, na seleção rigorosa de doadores (Lemos *et al.*, 2010). Vieira *et al.* (2009) preconiza o estabelecimento de uma boa avaliação clínica no programa de cães doadores, assim como exames para tipo sanguíneo e triagem de doenças infecciosas transmissíveis por transfusão. O perfil laboratorial consiste na realização de hemograma completo, provas funcionais bioquímicas hepáticas e renais, pesquisa de dirofilariose, babesiose, erliquiose e leishmaniose.

De acordo com o Kessler *et al.*, (2010) os animais doadores devem apresentar idade entre 1 a 8 anos, peso mínimo de 27Kg, temperamento dócil, vacinação e vermifugação em dia, controle de pulgas e carrapatos atualizado, ausência de doença ativa e não devem ter realizado transfusão sanguínea previamente. Lanevski e Wardrop (2001) vão ao encontro ao

trabalhado, estabelecendo que os doadores devam ter, entre outras características, o peso corpóreo em torno de 30 Kg e hematócrito mínimo de 40%. Nos casos de coletas em cães de menor porte, deve-se ajustar o volume de sangue à proporção de até 20 ml/kg.

Os cães têm como principal sistema sanguíneo o chamado DEA, que atualmente é dividido em vários grupos, como DEA 1 (dividido em 1.1, 1.2 e 1.3), DEA 3, DEA 4, DEA 5, DEA 6, DEA 7 e DEA 8 (KULDEEP *et al.*, 2019;). Devido à presença de diferentes alelos em diversos cromossomos, um animal pode ser classificado em mais de um grupo sanguíneo. Porém, é essencial observar que um animal não pode apresentar positividade para dois subgrupos distintos dentro do grupo DEA 1; geralmente sendo negativo ou positivo para os tipos 1.1 e 1.2 (KULDEEP *et al.*, 2019).

Miller, Aronson e Remington (1969) ressaltam que a transmissão que ocorre do *Toxoplasma gondii* pela transfusão sanguínea é muito preocupante, uma vez que o parasito sobrevive no sangue refrigerado. Nelson *et.al* (1989) relatam que um paciente humano foi diagnosticado como positivo para toxoplasmose cinquenta dias após receber uma transfusão de plaquetas.

Por isso, a rotina diária de cuidados relacionados à higiene e à realização de triagem clínica e bioquímica, incluindo a sorologia para identificação de agentes infecciosos como dirofilariose, babesiose, erliquiose, anaplasma e leishmaniose, em especial o *T. gondii* é essencial para garantir a segurança dos receptores de sangue (Miller, Aronson, Remington, 1969; Nelson *et al.*, 1989).

5 MATERIAL E MÉTODOS.

O estudo analisou amostras de sangue de 100 cães doadores do banco de sangue Hemovita, localizado no município de Niterói, para pesquisa de anticorpos IgG anti-*T.gondii*. Dados relativos a fatores de risco (idade, raça, sexo e manejo alimentar) também foram cedidos pelo laboratório para análise em conjunto. A coleta e processamento das amostras de cada animal ocorreu por 3 vezes, com intervalos trimestrais entre elas, totalizando 300 amostras. Tal procedimento foi preconizado a fim de acompanhar a evolução dos casos e possíveis novos positivos.

5.1 Local de Estudo

O estudo foi realizado com sangue cedido pelo laboratório do banco de sangue Hemovita, localizado em Niterói. As amostras de soro são provenientes dos cães doadores de sangue. Todos os animais incluídos no estudo estavam clinicamente saudáveis no momento da coleta. A técnica sorológica foi realizada no Laboratório Interdisciplinar em Doenças de Interesse Veterinário da UFRRJ.

5.2 Animais e Amostras Utilizadas

Foram avaliadas 300 amostras de soro de 100 cães doadores cadastrados no banco de sangue. Ou seja, cada cão doou sangue com intervalo de 90 dias entre cada coleta, totalizando 3 amostras de soro por animal (Figura 7). Os animais eram de ambos os sexos, sendo 80 fêmeas e 20 machos, com idade variando entre 1 e 6 anos.



Figura 7:Material para realização do teste de MAT. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

5.3 Sorologia para Detecção de *Toxoplasma gondii*

A análise sorológica para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, foi realizada pela técnica do MAT (Teste de Aglutinação Modificada), para detecção de anticorpos tipo IgG, empregada segundo Dubey e Desmonsts (1987).

5.3.1 Preparo das amostras de soro.

Tubos eppendorf de 0,5mL são identificados com o número relativo à amostra a ser testada (1 tubo por amostra, incluindo controles positivo, oriundos de animais com histórico prévio, e negativo) (Figura 8), em seguida as amostras foram descongeladas, secas e vortexadas por 5 segundos. Por fim, diluídas nos tubos identificados contendo 72 μ L PBS + 3 μ L amostra.

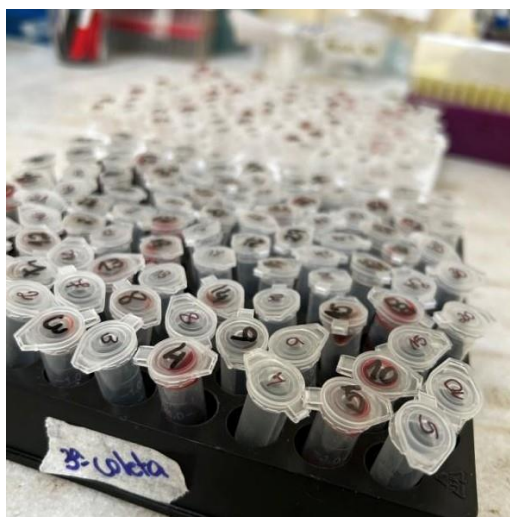


Figura 8:Identificação dos tubos eppendorff. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

5.3.2 Preparo do antígeno

O antígeno para o Teste de Aglutinação Modificada (MAT) foi fornecido pelo Dr. Hélio Langoni, UNESP – Botucatu.

A diluição foi realizada com 30 μL de antígeno estoque em 2625 μL de solução tamponada, 35 μL de 2-mercaptoetanol e 50 μL de azul de Evans a 0,2%.

O 2-Mercaptoetanol foi adicionado na capela de exaustão (para servir como uma barreira física para evitar reações química e evitar exaurir já que o 2-Mercaptoetanol é tóxico e muito volátil), onde a mistura também foi imediatamente adicionada à placa (Figura 9).



Figura 9: Disposição do antígeno nos respectivos poços. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

5.3.3 Preparo da placa de MAT.

As amostras foram adicionadas na placa, que é composta de 96 poços, com auxílio de micropipeta eletrônica. Cada poço corresponde a uma amostra contendo a quantidade de 25 μL de soro previamente diluído e 25 μL da solução de antígeno, começando da linha **A** até **G**, misturando gentilmente por pipetagem e trocando as ponteiros entre as transferências para evitar contaminação do antígeno.

5.3.4 Controles positivos.

As amostras foram homogeneizadas gentilmente por pipetagem. Após, foi transferido 50 μL da amostra do soro controle positivo diluído à **linha H fileira 1**. Em seguida foi adicionado 25 μL de PBS em todos os demais poços vazios da fileira 2 até 12. Posteriormente é realizada a diluição em série (1:25 a 3:200) transferindo 25 μL de cada amostra nas fileiras **1** a **8** para as fileiras imediatamente subsequentes, mesmas colunas, homogeneizado gentilmente por pipetagem em cada transferência.

5.3.5 Controle negativo.

Os controles negativos não recebem amostras, contendo somente com os 25 μL de PBS.

Ainda dentro da capela de exaustão, a placa foi coberta com fita adesiva transparente (Figura 10) e em seguida as placas foram colocadas na estufa de incubação a 37 °C por 12-16 horas.



Figura 10:Plastificação da Placa. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

5.3.6 Leitura da placa.

A leitura final da placa é realizada de forma visual, baseada no perfil de sedimentação dos taquizoítos suspensos. A avaliação visual é realizada a partir da observação do fundo da placa, contra uma fonte de luz. A interpretação dos resultados ocorre de tal forma que as amostras que demonstraram uma formação de botão azul ao fundo do poço são negativas e as amostras que tiverem um fundo claro em forma de teia serão consideradas positivas (Figura 11).



Figura 11: Leitura da Placa. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

5.3.7 Análise estatística

De acordo com o estudo realizado, o teste estatístico empregado foi o G, que avaliou duas variáveis categóricas baseadas na distribuição multinomial de probabilidades, baseado na relação de valores observados e esperados. Podemos visualizar em duas tabelas uma associação significativa entre os fatores de risco ao nível de significância de 5% ($P < 0.05$).

6 RESULTADOS

Como foram realizadas sorologias sequenciadas, na primeira coleta obtivemos 8 animais positivos (1/200), dos 100, dentre eles estavam 6 fêmeas e 2 machos com variação de idade entre 1 a 6 anos. Já no segundo momento tivemos tanto um aumentado de fêmeas quanto de machos positivos, 11 fêmeas positivas e 3 machos. Na última coleta a quantidade de fêmeas diminuíram, aumentando os machos, com 9 fêmeas e 6 machos (tabela2).

Tabela 2: Tabela de controle dos animais.

	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	
Positivos	8	14	15	
Negativos	92	86	85	
Total	100	100	100	
Reteste positivo	-	6	5	
Raças	Macho/Fêmea	Macho/Fêmea	Macho/Fêmea	Média de idade
Rotweiller	0/1	¼	1/1	3
Cane Corso	0/1	¼	1/3	3

Boxer	1/0	1/0	0/0	3
American Bully	0/1	0/2	1/3	3
OldEnglishBulldog	0/1	0/1	2/0	4
Pit Monster	0/0	0/0	0/0	5
Husky	1/1	0/1	1/1	6
Total	2/5	3/12	6/8	-

6.1 Fatores de Risco

Foram avaliados como fatores de risco para soropositividade para toxoplasmose em cães doadores: Manejo alimentar, sexo, idade e raça.

Observou-se por ocasião da 2ª coleta, uma associação significativa entre o tipo de alimentação fornecida aos animais e a ocorrência de toxoplasmose ($P < 0,05$). Nos animais que receberam somente ração observou-se uma redução significativa de positividade para toxoplasmose, enquanto nos animais que receberam ração mais frango observou-se um aumento significativo de positividade para toxoplasmose (tabela3).

Tabela 3: Tabela de controle dos animais.

Alimentação	Positivo <i>Toxoplasma</i> spp.	Negativo <i>Toxoplasma</i> spp.
Ração	-	20
Ração + Frango	14	66

Observou-se também na raça OldeEnglishBulldoge, por ocasião da 3ª coleta, uma associação significativa entre o sexo dos animais e a ocorrência de toxoplasmose ($P < 0,05$). Nas fêmeas observou-se uma redução significativa de positividade para toxoplasmose, enquanto que nos machos observou-se um aumento significativo de positividade para toxoplasmose (tabela4).

Tabela 4: Tabela estatística da variável raça.

Olde English Bulldoge	Positivo <i>Toxoplasma</i> spp.	Negativo <i>Toxoplasma</i> spp.
Fêmea	-	10
Macho	2	2

7 DISCUSSÃO

Toda forma de transmissão do *Toxoplasma gondii* é importante. Mas o presente trabalho buscou focar na transmissão por via transfusional, que desde 1969 já tinha sido alertada por Miller, Aronson e Remington, a fim de responder à hipótese de que poderia haver cães soropositivos para *T. gondii* doando sangue, mesmo em bancos de sangue especializados que fazem um controle rigoroso de seus doadores através de exames clínicos de triagem. Mesmo ao encontrar 15% de animais positivos para o patógeno através de amostras fornecidas pelo banco de sangue, não podemos confirmar com a ideia que Sousa (2018) prega: que o parasito seria capaz de sobreviver mesmo em sangue resfriado, para isso teríamos que fazer além do teste realizado, PCR das amostras para confirmação dos resultados.

A escolha de cães e não de gatos como objeto desse estudo tem justificativa no fato de que atualmente existe muita literatura científica e pesquisa que relaciona a toxoplasmose aos felinos, seu hospedeiro definitivo, mas há pouca produção de artigos relacionando a doença aos cães doadores de sangue, como foi percebido durante a realização da pesquisa. Os cães foram escolhidos porque Leal e Coelho (2014) ressaltam que uma das maneiras de avaliar a disseminação de *T. gondii* no ambiente é estudar a soroprevalência em animais que atuam como sentinelas, já que estão expostos a riscos similares aos do ser humano. Benitez (2018) reforça essa ideia do cão como sentinela para a doença, por sua relação intrínseca com o homem e pelo fato de a espécie canina poder carregar mecanicamente *T. gondii* para o ambiente doméstico compartilhado com seus donos (Arruda *et al.*, 2021).

Como visto ao longo desse trabalho, a infecção por *T. gondii* em cães é de grande importância epidemiológica e clínica e a soroprevalência da infecção pode variar de acordo com a idade e o estilo de vida do animal, como destacado por Dubey e Jones (2008). Molinaro (2013) acrescenta que não há diferenças estatísticas entre a incidência de casos na zona rural e urbana. Por isso, neste estudo em particular, foram avaliados animais de canis de reprodução que são doadores de sangue que vivem no ambiente domiciliar de suas casas, junto com a família, mas também de cães que têm seu espaço habitado em áreas externas: nos canis construídos fora de casa.

Para o estudo foram utilizadas 300 amostras de sangue de cães machos e fêmeas e nos resultados foi observada diferença estatística significativa na variável sexo. A quantidade maior de fêmeas positivas no estudo é esperada já que foram avaliados cães de canil de reprodução, onde as fêmeas são majoritárias. Esse resultado corrobora com os obtidos por Romanelli *et al.* (2007) que relata a positividade em fêmeas.

Os animais dos canis avaliados têm entre 1 e 6 anos que, segundo a AAHA (2019), são animais considerados adultos jovens. Segundo Azevedo (2005), a prevalência de infecção por *T. gondii* tem tendência a ser maior em animais adultos, uma vez que, com o decorrer dos anos, existe maior probabilidade de o cão entrar em contato com as fontes de infecção, fato este também observado por Navarro *et al.* (1997), Barbosa *et al.* (2003) e Dalla Rosa *et al.* (2010). Na pesquisa realizada também foi observada maior proporção de cães soropositivos em adultos, visto a amostragem utilizada. Vale ressaltar, no entanto, que Rovid (2017) e Mendes (2019) encontraram resultados diferentes, relatando que a toxoplasmose ocorreria principalmente em cães jovens com menos de 1 ano.

Em felinos, o estudo da toxoplasmose é bem difundido e vem sendo elucidado ao longo das décadas, contudo o mesmo não se aplica ao estudo da doença em cães, que

apresenta um panorama de estudos menor. Isso ocorre por os gatos serem hospedeiros definitivos e os cães são intermediários, então uma das hipóteses que esse estudo suscitou é se a toxoplasmose pode estar sendo subestimada. O que corrobora com estudos epidemiológicos que indicam a prevalência do *T. gondii* que pode estar relacionada à concentração de felídeos naquela localidade, uma vez que eles são imprescindíveis no ciclo de vida do parasito, pois são os únicos capazes de eliminar as formas infectantes do protozoário, conhecidas como oocistos. Esses oocistos, por sua vez, contaminam reservatórios de água, solo e alimentos, contribuindo para a disseminação da toxoplasmose (Jones; Dubey, 2014). O estudo mostra que 15 % dos animais testados foram positivos para o anticorpo do toxoplasma mostrando que a doença circula sim na população canina.

Os cães de criação são normalmente construídos em áreas abertas, onde há maior possibilidade de transição e contato com felinos de vida livre, sobretudo pela disponibilidade de recursos como água e comida. Isso significa que os cães que vivem em canis têm mais chances de ter contato com gatos infectados, aumentando o risco de contaminação e, consequentemente, de disseminação da doença.

Se tratando das formas de transmissão, Souza e Belfort (2014) citam a importância da via oral através da ingestão de frutas, legumes mal lavados e água não tratada contendo oocistos esporulados. Dubey (2010) reforça que a água contaminada vem ganhando importância desde o surto que ocorreu em Santa Maria, onde uma grande parcela da população se infectou com *T. gondii* através da água. Na coleta de dados para o presente estudo, os cães informaram que os animais são abastecidos com água de torneira, portanto não filtrada, o que poderia se tornar uma via de infecção para eles.

Outro fator que impacta diretamente na transmissão da toxoplasmose diz respeito ao consumo de vísceras e alimentação crua pelos animais. Moura *et al.* (2009) e Silva *et al.* (2016), ao avaliarem fatores de risco para a infecção por *T. gondii*, encontraram prevalências de 38,1% e 74,2%, respectivamente, chegando à conclusão que a alimentação à base de dieta caseira, em especial alimentação natural crua, é um fator predisponente para a infecção. A maioria dos animais soropositivos para toxoplasmose do estudo recebiam suplementação com frango cru dos cães. Souza e Belfort (2014) e Jones e Dubey (2014) ressaltam que entre as medidas de prevenção contra a toxoplasmose está a não ingestão de carne crua ou malcozida.

Durante a revisão de literatura, Molinaro (2013) afirma que o curso clínico da toxoplasmose varia desde sua forma subclínica (assintomática) em pacientes imunocompetentes, até formas generalizadas da doença que podem progredir para o óbito. De fato, no presente estudo nenhum dos animais positivos para *T. gondii* apresentaram sinais clínicos da doença.

E ainda que alguns autores tenham relacionado que o estresse e a presença de comorbidades como erlichiose, cinomose e babesiose pudessem predispor ao aparecimento de sinais clínicos (Giardi *et al.*, 2014 e Miranda *et al.*, 2011), os cães que positivaram no presente trabalho eram negativos nos testes de triagem para outras doenças.

Sousa (2015) ressalta que animais positivos para toxoplasmose podem apresentar alterações em hemograma como anemia arregenerativa, leucocitose ou leucopenia, neutrofilia ou neutropenia, linfocitose ou linfopenia, monocitose ou monocitopenia e eosinofilia ou eosinopenia. No entanto, nenhum dos animais doadores possuía alteração nos exames laboratoriais de triagem.

Tais exames são importantes para uma avaliação clínica adequada dos cães doadores e sangue, sobretudo quando falamos de um canil reprodutor, onde doenças infecciosas podem

causar perdas reprodutivas (Rovid, 2017 e Mendes, 2019). E o perfil laboratorial de triagem inclui a realização de hemograma completo, testes funcionais bioquímicos do fígado e dos rins, além de pesquisas para detectar doenças infecciosas como dirofilariose, babesiose, erlichiose e leishmaniose (Vieira *et al.*, 2009). O banco de sangue responsável por fornecer as amostras deste estudo realiza esses exames a fim de assegurar que o animal esteja saudável e apto a doar sangue, sem prejudicar sua própria saúde ou a do animal receptor. Ao garantir que apenas cães saudáveis sejam utilizados como doadores, é possível minimizar os riscos de transmissão de doenças e garantir a qualidade do sangue transfundido.

Em relação aos métodos de diagnóstico da doença, diversas técnicas sorológicas para detectar anticorpos IgG anti-*T. gondii* vêm sendo usadas em animais e humanos, desde o teste de corante Sabin-Feldman (DT), teste de aglutinação modificado (MAT), teste de aglutinação direta (DAT), teste de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio de hemaglutinação indireta (IHA), teste de aglutinação em látex (LAT), Western blot (WB) e ensaio imunoenzimático (ELISA), cada um destas com suas vantagens e limitações (KLD *et al.*, 2021).

Para o presente estudo, foi escolhida a técnica do MAT, uma vez que na literatura, Dubey (2010) ressalta que esse é um método de fácil execução, econômico e com alta sensibilidade para o diagnóstico de toxoplasmose em animais, uma vez que não requer conjugados específicos da espécie, além de não necessitar de equipamentos específicos que cursariam com um alto custo para sua realização. Franco *et al.* (2003) confirma o desempenho adequado no sorodiagnóstico da toxoplasmose canina, uma vez que o Teste de MAT possui sensibilidade de 85% e especificidade de 100%. E acrescenta que a reatividade cruzada com outros parasitas é mínima, uma vez que os taquizoítos apresentam epítomos muito específicos na superfície.

Por esses fatores, a técnica do MAT foi considerada um bom teste de triagem na pesquisa desenvolvida ainda que tenha ocorrido uma flutuação na prevalência de positivos durante as 3 coletas. Os resultados obtidos demonstraram que, na primeira coleta, 8% dos cães testados apresentaram soropositividade para o parasita. Na segunda coleta, 14% e, na terceira e última coleta, 15%. Franco *et al.* (2003) explica que a ocorrência de variações nos resultados pode ter relação com a fase de resposta imune do animal avaliado.

O aumento de animais positivos na segunda coleta sugere que eles poderiam estar em período de incubação da doença, como cita Rovid (2017), ou pode ser ainda que tenham se infectado entre uma coleta e outra, uma vez que o período de incubação em animais varia de 10 a 23 dias quando a transmissão ocorre pela ingestão de cistos teciduais e de 5 a 20 dias após a ingestão de oocistos (Brasil, 2021). Franco *et al.* (2003) acrescenta ainda que os níveis de anticorpos circulantes estão relacionados ao grau de exposição, ao desafio antigênico persistente e/ou ao controle do parasita pelo hospedeiro, o que poderia justificar os animais que no primeiro momento positivaram e, em seguida, negativaram. Muito possivelmente, os níveis de anticorpos nesses animais diminuíram com o passar dos dias.

É preciso salientar ainda que a prevalência de soropositividade nas amostras do estudo (15%) foi significativamente menor do que nas pesquisas realizadas por Navarro *et al.* (1992) e Zulpo *et al.* (2012) que encontraram uma prevalência mais elevada: de 75,98% (193/254) e 50,89% (57/112), respectivamente. Essa divergência pode ter ocorrido porque a técnica do MAT busca detectar anticorpos IgG que podem variar de acordo com o estágio das infecções (recentes ou crônicas), ainda que ambas as técnicas meçam anticorpos IgG produzidos a partir da primeira semana pós infecção (Franco *et al.*, 2003) ou pela tecnologia usada, uma vez que nos estudos de Navarro *et al.* e Zulpo *et al.* (2012) foi utilizada a técnica de RIFI. Já Zanella

(2016) explica que tais resultados divergentes podem ser justificados pelo fato de que, por se tratar de um coccídio cosmopolita, *T. gondii* é encontrado disperso nas mais distintas regiões geográficas, o que pode impactar na variação da soroprevalência.

Os resultados obtidos por meio do método sorológico podem revelar um reflexo significativo da contaminação ambiental, fornecendo uma valiosa contribuição para a identificação de potenciais fatores de risco relacionados à infecção.

Devido a sua relevância para a saúde pública, a toxoplasmose, doença zoonótica causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* tem sido amplamente estudada no meio científico. Muitos estudos relacionando a doença aos felinos, seu hospedeiro definitivo, já foram produzidos e publicados. No entanto, a relação entre os cães e a doença tem sido menos explorada.

Ainda que os cães sejam hospedeiros intermediários, seu potencial como vetores da toxoplasmose já foi comprovado. Portanto, ao pesquisar a incidência do patógeno em cães doadores de sangue, este trabalho de conclusão de mestrado mostrou que a presença de *Toxoplasma* em cães é uma realidade, preenchendo essa lacuna de conhecimento de pesquisas que relacionam a toxoplasmose à espécie canina. Assim como Sousa (2018), suscitou ainda uma discussão importante ao sugerir que a detecção do *Toxoplasma gondii* seja incorporada aos exames de triagem de doadores de sangue como já é feito com outras doenças infecciosas como a erlichiose, uma vez que essa medida contribuiria significativamente para a aumentar a segurança transfusional e para a saúde pública no que diz respeito a prevenção da transmissão da doença tanto para cães quanto para seres humanos.

A proposta desse estudo não para por aqui. Em virtude da boa sensibilidade e especificidade, e da facilidade para a realização da técnica, o Teste de Aglutinação Modificada (MAT) se mostrou um bom exame de triagem diagnóstica para a toxoplasmose. No entanto, por ser uma técnica que pesquisa anticorpos, sugere-se como continuidade da pesquisa que os positivos sejam submetidos à testes de confirmação, através de técnicas como o PCR.

Portanto, é importante tomar medidas de prevenção e controle da toxoplasmose em canis, como manter os felídeos afastados das áreas onde os cães vivem, garantir a higiene adequada dos espaços e alimentos, além de realizar exames periódicos nos animais para identificar possíveis infecções. Dessa forma, é possível reduzir a prevalência da toxoplasmose e proteger a saúde dos cães e das pessoas que convivem com eles, como sempre vem sendo destacando por Dubey (2015).

Essa pesquisa também abre caminho para um possível desdobramento sobre a incidência da doença em gatos, uma vez que a existência de bancos de sangue com bolsas felinas é mais raro e a doação de sangue muitas vezes é realizada de forma não convencional, tendo como doadores gatos trazidos de conhecidos pelos próprios tutores dos receptores, muitas vezes sem qualquer histórico clínico.

Em suma, esse estudo representa um importante pontapé inicial, um despertar de consciência para a relevância desse tema. É um convite a outros pesquisadores a desenvolverem e aprofundarem investigações que relacionam a toxoplasmose aos cães. Apenas por meio de pesquisas rigorosas e validadas, dados confiáveis e comprovados poderemos contribuir significativamente para o desenvolvimento de medidas de controle e prevenção eficazes dessa zoonose de relevância mundial. O caminho está aberto para um progresso contínuo em busca de conhecimento que beneficiará a sociedade como um todo.

8 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste estudo, é possível concluir que a toxoplasmose possui uma incidência significativa em cães doadores de sangue. A detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em uma porcentagem considerável dos animais analisados reforça a importância de investigar a presença desse agente etiológico nos exames de triagem de doadores.

O aumento do percentual de animais positivos no decorrer do estudo denota que pode haver a disseminação do parasito nos cães doadores, uma vez que estão expostos a possíveis fontes de infecção como água não tratada e alimentos de origem animal crus e malcozidos.

Portanto, compreender a incidência da doença em bancos de sangue e estabelecer medidas de prevenção e controle tornam-se aspectos cruciais para garantir a segurança transfusional.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFSSA. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. 2005. Disponible em <http://afssa.fr/Ftp/afssa/35217-3528.pdf>>.

AGUIAR, D. M. *et al.* Canine distemper virus and *Toxoplasma gondii* co-infection in dogs with neurological signs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 221–224, fev. 2012.

AGUIRRE, A. A. *et al.* The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. **EcoHealth**, v. 16, n. 2, p. 378–390, 3 abr. 2019.

ALMEIDA, M. J. DE *et al.* Aspectos sociopolíticos da epidemia de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí (PR). **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, p. 1363–1373, 2011.

AMORIM, L. Toxoplasmose e transfusão de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. 4, ago. 2008.

ARRUDA, I. F. *et al.* *Toxoplasma gondii* in domiciled dogs and cats in urban areas of Brazil: risk factors and spatial distribution. **www.arca.fiocruz.br**, 2021.

ASSUMPÇÃO, A. L. K. **Introdução à clínica geriátrica do cão**. Universidade do Rio Grande do Sul, Faculdade de veterinária, Porto Alegre, RS-BR 2010.

ATTIAS, M. *et al.* The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, 23 nov. 2020.

AZEVEDO, S. S. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 79, n. 1, p. 51–56, ago. 2005.

BARBOSA, B. F. *et al.* Susceptibility to *Toxoplasma gondii* proliferation in BeWo human trophoblast cells is dose-dependent of macrophage migration inhibitory factor (MIF), via ERK1/2 phosphorylation and prostaglandin E2 production. **Placenta**, v. 35, n. 3, p. 152–162, mar. 2014.

BARBOSA, M. V. F. *et al.* Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 6, 2003.

BETINEZ, A. D. N. *et al.* Spatial and simultaneous representative seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in owners and their domiciled dogs in a major city of southern Brazil. v. 12, n. 7, p. e0180906–e0180906, 21 jul. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Nota Técnica n.º 02/2011 GT SINAN/CIEVS/DEVEP/SVS/MS. Atualização do fluxo de retorno – Sinan NET. Brasília, DF: MS, 2021.

BROWN, D.; VAP, L. Princípios sobre Transfusão Sanguínea e Reação Cruzada. In: THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1. ed. São Paulo, ROCA, 2006. cap. 15, p. 188-198.

CANÓN FRANCO, W. A. *et al.* Evaluation of the performance of the modified direct agglutination test (MAT) for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 6, 2003.

CANTON, K. M. K.; NASCIMENTO, G. C.; MOURA, L. K. B. *et al.* O conhecimento de indivíduos adultos sobre toxoplasmose em uma população universitária. **Revista de Enfermagem UFPE, Recife**, v. 9, n. 10, p. 1445-1452, dez. 2015.

CARINI A. Infection Spontanée Du Pigeon Et Du Chien Due Au *Toxoplasma Cuniculi*. **Bulletin De La Societe De Pathologie Exotique**, v. 4, p. 518-519, 1911.

CAVALIER-SMITH, T. The Protozoan Phylum Opalozoa. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 40, n. 5, p. 609–615, 1 set. 1993.

COLITZ, C. M. H. Feline Uveitis: Diagnosis and Treatment. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 20, n. 2, p. 117–120, maio 2005.

CREEVY, K. E. *et al.* 2019 AAHA Canine Life Stage Guidelines*. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 55, n. 6, p. 267–290, 1 nov. 2019.

CREEVY, K. E. *et al.* 2019 AAHA Canine Life Stage Guidelines*. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 55, n. 6, p. 267–290, 1 nov. 2019.

CURRENT, W. L., UPTON, S. J., LONG, P. L. Taxonomy and Life Cycle. Em: LONG, P. L. **Coccidiosis Of Man And Domestic Animals**. 1990.

DAVIDSON, M. G. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 5, p. 1051–1062, 1 set. 2000.

DONG, H. *et al.* Prevalence, Risk Factors, and Genotypes of *Toxoplasma gondii* in Food Animals and Humans (2000–2017) From China. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 11 set. 2018.

DUBEY, J. P. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 69–75, ago. 2006.

DUBEY, J. P. Duration of Immunity to Shedding of *Toxoplasma gondii* Oocysts by Cats. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 3, p. 410, jun. 1995.

DUBEY, J. P. *et al.* Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 99–105, jan. 2002.

DUBEY, J. P. *et al.* Dermatitis in a dog associated with an unidentified *Toxoplasma gondii*-like parasite. **Veterinary Parasitology**, v. 116, n. 1, p. 51–59, 1 ago. 2003.

DUBEY, J. P. *et al.* *Toxoplasma gondii* infections in dogs: 2009-2020. **Veterinary Parasitology**, v. 287, p. 109223, 1 nov. 2020.

DUBEY, J. P. *et al.* Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology†. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p. 1375–1424, 1 set. 2012.

DUBEY, J. P. *et al.* Toxoplasmosis in Sand cats (*Felis margarita*) and other animals in the Breeding Centre for Endangered Arabian Wildlife in the United Arab Emirates and Al Wabra Wildlife Preservation, the State of Qatar. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 3-4, p. 195–203, set. 2010.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in dogs. **Canine Practical**. v. 12., p. 7-28, 1985.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group LLC, 2009.

DUBEY, J. P. Validation of the specificity of the modified agglutination test for toxoplasmosis in pigs. **Veterinary Parasitology**, v. 71, n. 4, p. 307–310, ago. 1997.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Feline Toxoplasmosis from Acutely Infected Mice and the Development of Toxoplasma Cysts*. **The Journal of Protozoology**, v. 23, n. 4, p. 537–546, nov. 1976.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, p. 1009–1034, nov. 2009.

DUBEY, J.; JONES, J. Toxoplasma gondii infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1257–1278, set. 2008.

DUBEY, J.P. **Toxoplasmosis Of Animals And Humans**. Crc Press, Boca Raton, N. 2, P.1-313, 2010.

DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P. Serologic diagnosis of toxoplasmosis in cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 9, p. 1297-1299, 1989.

ENRIQUEZ, G. F. *et al.* Poliparasitismo e parasitas zoonóticos em cães de uma área rural do Chaco argentino. **Veterinary Parasitology**, v. 16, p.287, 2019.

FERREIRA, F. P. *et al.* FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-TOXOPLASMA GONDII EM CÃES COM SINAIS CLÍNICOS COMPATÍVEIS COM TOXOPLASMOSE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 640–646, dez. 2016.

FRENKEL, J. K. Toxoplasma in and around Us. **BioScience**, v. 23, n. 6, p. 343–352, jun. 1973.

GALVÃO, A. L. B. *et al.* Aspectos da toxoplasmose na clínica de pequenos animais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 393, 27 fev. 2014.

GAO, Y.-M. *et al.* Prevalence of Toxoplasma gondii in pet dogs in mainland China: A meta-analysis. **Veterinary Parasitology**, v. 229, p. 126–130, out. 2016.

GERHOLD, R. *et al.* Acute onset of encephalomyelitis with atypical lesions associated with dual infection of Sarcocystis neurona and Toxoplasma gondii in a dog. **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 3-4, p. 697–701, out. 2014.

GIARDI, A.F. *et al.* Occurrence of anti-Toxoplasma gondii and Ehrlichia canis antibodies in dogs with nervous alterations assisted at a veterinary teaching hospital. **Semina: Ciência Agrícola**, V. 35, P.1913-1922, 2014.

GIMENES, V. *et al.* Cumulative incidence and spatial distribution of dogs exposed to Toxoplasma gondii. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária/Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 29, n. 2, 1 jan. 2020.

- GOMES, M. C. DE O. SOROLOGIA PARA TOXOPLASMOSE. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 6, n. 2, p. 8–11, 2004.
- GREENE, C. E. **Infections diseases of the dog and the cat**. 2 ed. São Paulo: Saunders Company, 1998.
- HALONEN, S. K.; WEISS, L. M. Toxoplasmosis. **Neuroparasitology and Tropical Neurology**, v. 114, p. 125–145, 2013.
- HILL, D. E.; DUBEY, J. P. Toxoplasma gondii as a Parasite in Food: Analysis and Control. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 4, 18 ago. 2016.
- JONES, J.L., and DUBEY, J.P. Epidemiologia da Toxoplasmose. In: SOUZA, W., and BELFORT JR., R., comp. Toxoplasmose & *Toxoplasma gondii* [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014, pp. 117–126. ISBN: 978-85-7541-571-9. <https://doi.org/10.7476/9788575415719.0010>.
- KAWAZOE, U. Toxoplasma gondii. In: Neves DP. Parasitologia Humana. 11 ed. São Paulo: Atheneu, p. 149-156, 2005.
- KESSLER, R.J. *et al.* Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v.39, n.3, p.306-316, 2010.
- KOCHANOWSKY, J. A.; KOSHY, A. A. Toxoplasma gondii. **Current Biology**, v. 28, n. 14, p. R770–R771, 23 jul. 2018.
- KULDEEP, S. K. *et al.* Blood transfusion in veterinary clinical practice: a review. **Journal of Entomology and Zoology Studies**. v. 7, n. 1, p. 1459-1461, 2019.
- LANEVSKI, A.; K. JANE WARDROP. Principles of transfusion medicine in small animals. **PubMed**, v. 42, n. 6, p. 447–54, 1 jun. 2001.
- LANGONI, H. *et al.* Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 3, p. 365–368, 1 jun. 2012.
- LANGONI, H. *et al.* Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 4, p. 1327–1330, dez. 2013.
- LEAL, P. D. S.; COELHO, C. D. Toxoplasmosis in dogs: a brief review. **Coccidia**. v. 2, n. 1, p. 2-39, 2014.
- LEMOES, D. S. A.; NOVAIS, A. A.; NOGUEIRA, A. F. S. Avaliação laboratorial de cães após transfusão de sangue total. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v.17, p.67, 2010.

LINDSAY, D. S. *et al.* Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 73, n. 1-2, p. 27–33, dez. 1997.

LIU, Q. *et al.* Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, 28 maio 2015.

LIYANAGE, K. L. D. T. D. *et al.* Descriptive Comparison of ELISAs for the Detection of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Animals: A Systematic Review. **Pathogens**, v. 10, n. 5, p. 605, 15 maio 2021.

LUCIANA DALLA ROSA *et al.* *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 268–269, 1 dez. 2010.

MELLO, V. Um Cas De Toxoplasmose Du Chien Observe À Turin. **Bulletin De La Société De Pathologie Exotique**. v. 6, n. 1, p. 10-15, 1910.

MIGLIORE, S. *et al.* A rare case of acute toxoplasmosis in a stray dog due to infection of *T. gondii* clonal type I: public health concern in urban settings with stray animals? **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, 17 ago. 2017.

MILLER, M. J. Late Parasitemia in Asymptomatic Acquired Toxoplasmosis. **Annals of Internal Medicine**, v. 71, n. 1, p. 139, 1 jul. 1969.

MIRANDA, F. J. B., *et al.* Infecção Simultânea Por *Ehrlichia Canis*, *Babesia Canis* E Vírus Da Cinomose Canina - Relato De Caso. **Jornal Brasileiro De Ciência Animal**, V. 3, P.238 – 246, 2011.

MOLINARO, E. M., CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. v. 3. Rio de Janeiro: **EPSJV**; IOC, 2013.

MOURA, A. B. *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, N. 3, P. 52-56.2009.

NASCIMENTO, M. M. M. *et al.* Infecção por Toxoplasmose Congênita: relato de caso. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e420111032869, 6 ago. 2022.

NAVARRO, I. T. *et al.* Estudo comparativo entre soro e plasma na pesquisa de anticorpos anti - Toxoplasmose *Gondii* pela técnica de imunofluorescência indireta em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina-PR, 1996. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 15–21, 15 jan. 1997.

NAVARRO, I. T. *et al.* Prevalência de anticorpos Anti-toxoplasma gondii em cães atendidos no hospital veterinário da UEL- PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 66, 13 jan. 1992.

NELSON, J. C. *et al.* Acquired toxoplasmic retinochoroiditis after platelet transfusions. **PubMed**, v. 21, n. 7, p. 253–4, 1 jul. 1989.

ODILON, A. L. *et al.* *Toxoplasma gondii* em solos de hortas comunitárias do município de São Paulo, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 433–438, 2015.

OLIVEIRA, V. DA C. *et al.* Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. **PloS One**, v. 12, n. 4, p. e0175588, 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL PARA A SAÚDE ANIMAL - OIE. Terrestrial Animal Health Code, 2008. Disponível em: . Acesso em: 11 nov. 2014.

PAPINI, R.; MANCIANTI, F.; SACCARDI, E. Noise sensitivity in a dog with toxoplasmosis. **Veterinary Record**, v. 165, n. 2, p. 62–62, jul. 2009.

PATITUCCI, A. N. *et al.* Protozoal encephalomyelitis of dogs involving *Neosporum caninum* and *Toxoplasma gondii* in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 45, n. 6, p. 231–235, dez. 1997.

PAULAN, S. DE C. *et al.* Seroprevalence rates of antibodies against *Leishmania infantum* and other protozoan and rickettsial parasites in dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 162–166, mar. 2013.

PEREIRA, J. K. D. M. *et al.* Toxoplasmose em cães e gatos na mesorregião do Sertão, Nordeste do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e44711427463, 23 mar. 2022.

PEREIRA, P. M.; RAMALHO, F. S. Transfusão sanguínea. **Clínica Veterinária**, v. 34, p. 4–40, 2001.

REY, L. **Parasitologia - Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem nos Trópicos Ocidentais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2008. p. 888.

REZENDE, E. F. *et al.* Reactivation of Chagas' disease in a patient with non-Hodgkin's lymphoma: gastric, oesophageal and laryngeal involvement. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 1, p. 74–78, 1 jan. 2006.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDE, M.-L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 2, p. 264–296, 1 abr. 2012.

ROMANELLI, P. R. *et al.* Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 2, p. 202–207, abr. 2007.

ROVID, A. 2017. Toxoplasmose. Traduzido e adaptado a situação do Brasil por Mendes, Ricardo, 2019. Disponível em <https://www.cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/factsheets-pt/>.

SBMT, Sociedade brasileira de medicina tropical. Toxoplasmose: Surto em Santa Maria (RS) deve ser confirmado maior do mundo. 2018.

SCHARES, G. *et al.* Oocistos de *Neosporacanicum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* e *Hammondia hammondi* em fezes coletadas de cães na Alemanha. **Internacional Journal of Parasitology**. v. 35, p. 1525-1537, 2005.

SEABRA, N. M. DE *et al.* *Toxoplasma gondii*, *Neosporacanicum* and *Leishmania* spp. serology and *Leishmania* spp. PCR in dogs from Pirassununga, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 454–458, 10 nov. 2015.

SEVÁ, A. DA P. *et al.* Seroprevalence and incidence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in naturally exposed domestic dogs from a rural area of São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 3, 2020.

SILVA, A. V. DA *et al.* Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, p. 115–119, 1 fev. 2003.

SILVA, F. W. S. *et al.* Toxoplasmose: uma revisão. **Ciência animal**. v. 16, n. 2, p. 71-77, 2006.

SILVA, R. C. DA *et al.* Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from the coast of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 161–166, fev. 2010.

SILVA, R. C.; SILVA, A. V. Toxoplasmose Em Animais Domésticos. **Doenças Infecciosas Em Animais De Produção E Companhia**. Rio De Janeiro: Roca, 1040-1053 . 2016.

SILVA, R. C.; SILVA, A. V. Toxoplasmose Em Animais Domésticos. **Doenças Infecciosas Em Animais De Produção E Companhia**. Rio De Janeiro: Roca, 1040-1053 P. 2016.

SOUSA, K. C. M. DE *et al.* Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, p. 449–455, dez. 2014.

SOUSA, S. *et al.* rTgOWP1-f, a specific biomarker for *Toxoplasma gondii* oocysts. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 14 maio 2020.

Sousa, V. P. **Fatores Imunogenéticos de Risco na Infecção por *Toxoplasma gondii* em Doadores de Sangue.** São José do Rio Preto, 2018. 55p

SOUZA, J. Y. *et al.* Valor prognóstico do teste de avidéz de IgG para confirmação de infecção congênita pelo *Toxoplasma gondii* em soros de recém-nascidos. **Revista de Patologia Tropical**, v.44, n.2, p.1-18, 2015.

SOUZA, W.; BELFORT JR., R., comp. **Toxoplasmose & *Toxoplasma gondii*** [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 117- 126, 2014

ULLMANN, L. S. *et al.* Ações de vigilância continuada, papel do cão como animal sentinela para toxoplasmose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 17, n. 1, p. 345–347, 1 set. 2008.

VIEIRA, J.; BOGNATO, R.K.; GONÇALVES, S. Hematocrit monitoring in blood-donor dogs. v. 34., São Paulo. Proceeding... Brazil: **World Small Animal Veterinary Association**, v. 34, p.129-130, 2009.

WATTS, E. *et al.* Novel Approaches Reveal that *Toxoplasma gondii* Bradyzoites within Tissue Cysts Are Dynamic and Replicating Entities In Vivo. **mBio**, v. 6, n. 5, 8 set. 2015.

WEBB, J. A. *et al.* Cutaneous Manifestations of Disseminated Toxoplasmosis in an Immunosuppressed Dog. **The Journal of the American Animal Hospital Association/Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 3, p. 198–202, 1 maio 2005.

WEI, H. X. *et al.* Relationship Between Cat Contact and Infection by *Toxoplasma gondii* in Humans: A Meta-Analysis. **Comparative Parasitology**, v. 83, n. 1, p. 11–19, jan. 2016.

ZANELLA, J. R. C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 510–519, maio 2016.

ZANETTE, M. F. *et al.* Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neosporacanthium* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum* chagasi tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 105–107, jan. 2014.

ZULPO, D. L. *et al.* Ocorrência de anticorpos contra *Leishmania* spp., *Neosporacanthium* E *Toxoplasma gondii* em soros de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina-Pr. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1897–1906, 30 out. 2012.