

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PESQUISA DE *Toxoplasma gondii* (NICOLLE &
MANCEAUX, 1909) EM SÊMEN, TESTÍCULOS E
EPIDÍDIMOS DE GATOS (*Felis catus*) PRIMÓINFECTADOS**

Weslen Fabricio Pires Teixeira

Médico Veterinário

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PESQUISA DE *Toxoplasma gondii* (NICOLLE &
MANCEAUX, 1909) EM SÊMEN, TESTÍCULOS E
EPIDÍDIMOS DE GATOS (*Felis catus*) PRIMÓINFECTADOS**

Weslen Fabricio Pires Teixeira

Orientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva).

T266p Teixeira, Weslen Fabricio Pires
Pesquisa de *Toxoplasma gondii* (NICOLLE e MANCEAUX, 1909)
no sêmen, testículos e epidídimos de gatos (*Felis catus*)
primoinfectados / Weslen Fabricio Pires Teixeira. – – Jaboticabal,
2015
xvi, 107 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Alvimar José da Costa
Banca examinadora: Kátia Denise Saraiva Bresciani, Carlos
Noriyuki Kaneto, Welber Daniel Zanetti Lopes, Claudio Alessandro
Massamitsu Sakamoto
Bibliografia

1. Felinos. 2. PCR. 3. Taquizoítos. 4. Toxoplasmose. 5.
Transmissão sexual. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.6:636.8

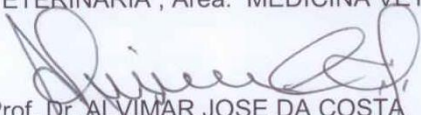
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PESQUISA DE *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM SÊMEN, TESTÍCULOS E EPIDÍDIMOS DE GATOS (*Felis catus*) PRIMÓINFECTADOS

AUTOR: WESLEN FABRICIO PIRES TEIXEIRA

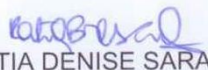
ORIENTADOR: Prof. Dr. ALVIMAR JOSE DA COSTA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA, pela Comissão Examinadora:



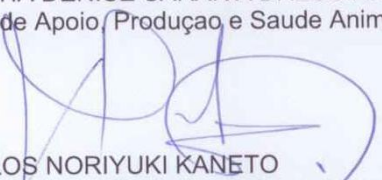
Prof. Dr. ALVIMAR JOSE DA COSTA

Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



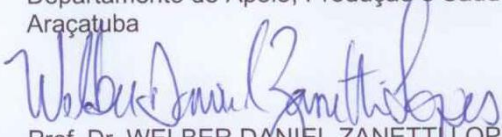
Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

Departamento de Apoio / Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba

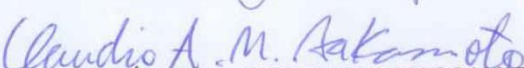


Prof. Dr. CARLOS NORIYUKI KANETO

Departamento de Apoio / Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba



Prof. Dr. WELBER DANIEL ZANETTI LOPES
Universidade Federal de Goiás / Jataí/GO



Prof. Dr. CLÁUDIO ALESSANDRO MASSAMITSU SAKAMOTO
Universidade Estadual de Maringá / Umuarama/PR

Data da realização: 18 de dezembro de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Weslen Fabricio Pires Teixeira - Nascido em 12 de abril de 1983, no município de Dourados, Estado do Mato Grosso do Sul. Coursou Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina, São Paulo, no período de janeiro de 2004 e dezembro de 2008, quando foi monitor das disciplinas Anatomia Descritiva 1 e 2, Parasitologia Veterinária, Suinocultura, Patologia Clínica Veterinária e Imunologia Veterinária. Neste período também realizou estágios, nas áreas de Parasitologia Veterinária, Patologia Clínica Veterinária e Diagnóstico Molecular de Parasitos. Em março de 2009 iniciou a Pós graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP, obtendo o título de mestre em dezembro de 2010. Neste período, realizou junto ao Laboratório de Ornitopatologia, pesquisas envolvendo o diagnóstico da criptosporidiose em ruminantes e aves por meio de técnicas moleculares e imunológicas. Em 2011, ingressou no curso de Doutorado na Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, junto ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Concomitantemente, ingressou como pesquisador no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), onde atuou na realização de diversos estudos na área de Parasitologia Veterinária.

*“Saber cada dia um pouco mais e usá-lo
todos os dias para o bem”*

Jigoro Kano

DEDICO

Aos meus pais, Vera Lucia Pires Teixeira e Sebastião da Silva, e minha irmã Jaqueline Pires Teixeira, que com muito amor e dedicação, não medirão esforços para que eu realizasse este sonho. À minha namorada Mariana Fachini Esperança, conselheira e confidente, que sempre me apoiou em todas as etapas deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força, sabedoria e saúde para conclusão deste trabalho.

A meus Pais Sebastião da Silva Teixeira e Vera Lucia Pires Teixeira, e minha irmã Jaqueline Pires Teixeira, pessoas maravilhosas das quais me orgulho muito. Sempre serão meus heróis! Amo vocês.

A minha avó, Clotilde Martinho Pires, e minha tia Sirlei Regina Pires, por todo auxílio em minha educação, conselhos e carinhos durante toda minha vida.

A minha namorada Mariana, ao seu lado me sinto e sempre me sentirei forte!

Ao meu orientador Alvimar José da Costa, pessoa maravilhosa que aprendi a admirar! Muito obrigado por todo conhecimento, apoio, e amizade cedidas durante toda a realização desta tese!

Ao professor Gilson Pereira de Oliveira, conselheiro científico, e grande amigo!

A professora Kátia Denise Saraiva Bresciani. Grande Orientadora e amiga! Muito Obrigado pelos conselhos científicos, profissionais e pessoais!

Aos alunos de iniciação científica André Cayeiro, Giovana Pavão, Julia Cestari e Maria Eduarda. Pela grande contribuição na realização deste projeto.

A todos pesquisadores e funcionários do CPPAR (Ana Flávia, Ana Lucia, Breno, Carolina, Claudio, Daniel Pacheco, Danieli, Cleuza, “Cidinha”, Fernanda, Flávia, Gustavo, Guto, Helenara, Hurzana, Jéssica, João Carlos, José Lucio, Lucas Shigaki, Lucas Costa, Luciana Prando, “Luizinho”, Marcia, Matilde, Roberto, Taís, Thalita, Tiago, Vando, Welber e Willian), por toda amizade e apoio, essenciais no desenvolvimento deste estudo.

A todos os funcionários do IPESA (Aurélio, Clóvis, Dilssélio, João, Laura, Messias, “Picheca”, “Robertinho” e Sandra). Obrigado pela amizade e ajuda prestada todos estes anos!

A meus alunos de Judô (Marão Atlético Clube-Pereira Barreto, SP e Unesp/Jaboticabal, SP) e companheiros de treino de Jiu Jitsu (Equipe Águia Dourada-Formiga, MG e Núcleo-Jaboticabal, SP). Muito Obrigado pelos momentos de descontração e amizade, essenciais para o desenvolvimento do meu Doutorado.

Ao grande amigo Willian Marinho Dourado Coelho. Sem você não seria possível a realização deste sonho!

A meu orientador de mestrado Marcelo Vasconcelos Meireles. Pessoa que além do conhecimento, me passou a importância da dedicação e profissionalismo no desenvolvimento da pesquisa.

A todos membros das bancas examinadoras de qualificação e defesa desta tese: Alvimar José da Costa, Carlos Noriyuki Kaneto, Claudio Alessandro Massamitsu Sakamoto, Gilson Pereira de Oliveira, Kátia Denise Saraiva Bresciani, Marcos Rogério André e Welber Daniel Zanetti Lopes. Muito Obrigado pelas correções que enriqueceram o conteúdo deste trabalho.

A FAPESP, pelo auxílio financeiro cedido a este projeto.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, minha sincera gratidão.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Histórico	2
2.2. Classificação do parasito.....	3
2.3. Ciclo e hospedeiros.....	3
2.4. Vias de transmissão	5
2.5. Toxoplasmose em gatos	7
2.6. Justificativa	11
3. OBJETIVOS.....	12
3.1. Geral.....	12
3.2. Específicos.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Bem estar animal	13
4.2. Locais de realização do estudo.....	13
4.3. Cepas de <i>T. gondii</i>	14
4.4. Obtenção dos taquizoítos de <i>T. gondii</i> e preparação do inóculo.....	14
4.5. Obtenção dos cistos de <i>T. gondii</i> (cepa “P”) e preparação do inóculo...	14
4.6. Origem e destino dos felinos experimentais.....	15
4.7. Seleção e constituição dos grupos experimentais de felinos	15
4.8. Alojamento dos animais e período de aclimação	16
4.9. Inoculação dos gatos com <i>T. gondii</i>	16
4.10. Medidas de segurança pessoal e desinfecção das instalações	17
4.11. Manejo nutricional dos gatos	17
4.12. Observações clínicas diárias dos felinos	17

4.13. Exames coproparasitológicos.....	18
4.14. Resposta Imune humoral.....	19
4.15. Exames clínicos e laboratoriais nos felinos.....	21
4.16. Determinação de parasitemia.....	21
4.17. Colheitas de sêmen.....	22
4.18. Pesquisa de <i>T. gondii</i> no sêmen dos gatos.....	24
4.19. Pesquisa do <i>T. gondii</i> em amostras teciduais (testículos e epidídimos) dos gatos.....	26
4.20. Análise estatística.....	30
5. RESULTADOS.....	31
5.1. Seleção dos felinos experimentais.....	31
5.2. Obtenção dos taquizoítos (cepa “RH”) de <i>T. gondii</i> e padronização dos inóculos.....	31
5.3. Obtenção dos cistos (cepa “P”) de <i>T. gondii</i> e padronização dos inóculos.....	31
5.4. Observações clínicas dos felinos.....	32
5.5. Pesquisa de <i>T. gondii</i> nas amostras fecais felinas.....	37
5.6. Exames clínicos dos felinos.....	42
5.7. Exames hematológicos dos felinos experimentais.....	48
5.8. Resposta Imune Humoral.....	60
5.9. Determinação da Parasitemia.....	63
5.10. Colheita de sêmen dos felinos.....	66
5.11. Pesquisa do <i>T. gondii</i> no sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) dos felinos (bioprova).....	68
5.12. Pesquisa do <i>T. gondii</i> no sêmen e tecido (testículos e epidídimos) dos felinos pela nested PCR.....	70

5.13. Pesquisa do <i>T. gondii</i> nos testículos e epidídimos felinos por meio de análises histopatológica e imunohistoquímica	73
6. DISCUSSÃO	74
7. CONCLUSÕES	84
8. REFERÊNCIAS	85
ANEXOS	107

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Percentuais de positividade da infecção toxoplásmica em gatos no mundo de acordo com o autor e ano da descrição do estudo, local e reação sorológica utilizada.....	9/10
Tabela 2. Distribuição dos grupos experimentais, inóculos utilizados e via de inoculação. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	16
Tabela 3. Observações clínicas diárias dos felinos pertencentes aos grupos I, II e III. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	33
Tabela 4. Consistência das fezes excretadas pelos felinos pertencentes ao grupo I, do 1º ao 17º dia pós-inoculação de cistos de <i>Toxoplasma gondii</i> (cepa “P”). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	39
Tabela 5. Peso (g) total das fezes excretadas pelos felinos pertencentes ao grupo I, do 1º ao 17º dia pós-inoculação de cistos de <i>Toxoplasma gondii</i> (cepa “P”). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	39
Tabela 6. Número de oocistos eliminados em dois gramas de fezes pelos gatos experimentalmente infectados com cistos da cepa “P” de <i>Toxoplasma gondii</i> . CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	40
Tabela 7. Número aproximado de oocistos eliminados por cada felino experimentalmente infectado com cistos da cepa “P” de <i>Toxoplasma gondii</i> , nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	40

Tabela 8. Pesquisa de oocistos (<i>Toxoplasma gondii</i>) nas fezes dos felinos inoculados com cistos (cepa “P”) do parasito (grupo I), por meio da bioprova em camundongos e microscopia de luz. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	41
Tabela 9. Frequência respiratória aferida nas diferentes datas experimentais dos felinos infectados com <i>Toxoplasma gondii</i> (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	44
Tabela 10. Frequência cardíaca aferida nas diferentes datas experimentais dos felinos infectados com <i>Toxoplasma gondii</i> (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	45
Tabela 11. Temperatura retal aferida nas diferentes datas experimentais dos felinos infectados com <i>Toxoplasma gondii</i> (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	46
Tabela 12. Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros clínicos (frequência respiratória, frequência cardíaca, e temperatura retal), mensurados nas diferentes datas experimentais, nos felinos infectados com <i>Toxoplasma gondii</i> (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	47
Tabela 13. Parâmetros eritrocitários obtidos nas diferentes datas experimentais nos felinos infectados com <i>Toxoplasma gondii</i> (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	49/50/51

- Tabela 14.** Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros eritrocitários obtidos nas diferentes datas experimentais, nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP..... 52
- Tabela 15.** Parâmetros leucocitários e plaquetários obtidos em diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP..... 55/56/57
- Tabela 16.** Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros leucocitários e plaquetários dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP..... 58/59
- Tabela 17.** Recíprocas sorológicas obtidas por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) realizada nas amostras sorológicas, colhidas dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP..... 61
- Tabela 18.** Comparações múltiplas dos títulos sorológicos (IgG anti-*T. gondii*) obtidos dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP..... 62
- Tabela 19.** Determinação da parasitemia do *Toxoplasma gondii* nos reprodutores felinos (GI, GII e GIII) nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP..... 64

Tabela 20. Análise estatística entre os dados obtidos de parasitemia do <i>Toxoplasma gondii</i> nos reprodutores felinos GI e GII, nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	65
Tabela 21. Amostras de sêmen colhidas dos felinos experimentais (GI, GII e GIII) nas diferentes datas experimentais, por meio da eletroejaculação. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	67
Tabela 22. Resultados obtidos na pesquisa do <i>Toxoplasma gondii</i> realizada por meio da bioprova em camundongos, em amostras seminais e teciduais (testículos e epidídimos) colhidas dos reprodutores felinos (GI, GII e GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	69
Tabela 23. Resultados obtidos na pesquisa do <i>Toxoplasma gondii</i> realizada por meio da nested PCR, em amostras seminais e teciduais (testículos e epidídimos) colhidas dos reprodutores felinos (GI, GII e GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.....	71

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Eletroejaculador e transdutor cilíndrico (probe), utilizados na colheita de sêmen felino.....	23
Figura 2. Colheita de sêmen felino.....	24
Figura 3. Orquiectomia realizada nos reprodutores felinos.....	28
Figura 4. Abscesso formado no local da inoculação de <i>T. gondii</i> no felino RH3.....	34
Figura 5. Felino RH1 com tenesmo no 49º DPI.....	36
Figura 6. Sonda nasogástrica afixada no felino RH1 (51º DPI).....	36
Figura 7. Bioprova positiva. A: Cisto de <i>T. gondii</i> em cérebro de camundongo inoculado com fezes dos felinos GI. B: RIFI positiva título>32 (soro camundongo inoculado com oocistos). C: Oocistos esporulados de <i>T. gondii</i> (microscopia de luz).....	38
Figura 8. Ilustração do gel de agarose contendo as amostras de DNA (previamente amplificado pela nested PCR), extraído do sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) felinos. PM: Marcador de peso molecular. C+: Controle Positivo. C-: Controle negativo.....	72



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

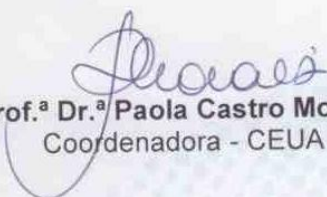


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 024137/13 do trabalho de pesquisa intitulado **"Pesquisa de *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) no sêmen de gatos (*Felis catus*) Primoinfectados"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alvimar José da Costa está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 04 de dezembro de 2013.

Jaboticabal, 17 de dezembro de 2013.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora - CEUA

PESQUISA DE *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) NO SÊMEN, TESTÍCULOS E EPIDÍDIMOS DE GATOS (*Felis catus*) PRIMAINFECTADOS

RESUMO - Este estudo teve como objetivo pesquisar a presença de *T. gondii* no sêmen, testículos e epidídimos de gatos experimentalmente infectados por este coccídio. Para tanto, doze felinos machos, sem raça definida, em idade reprodutiva e sorologicamente negativos para *T. gondii* foram selecionados e distribuídos em três grupos experimentais, GI: inoculados com 600 cistos teciduais de *T. gondii* (cepa “P”), GII: inoculados com 2×10^5 taquizoítos (cepa “RH”), e GIII: não inoculados (grupo controle). Anteriormente à inoculação (dias -7 e 0) e no 7º, 14º, 21º, 28º, 42º, 56º e 70º dias pós-inoculação (DPI), todos felinos, foram submetidos a exames clínicos, sorológicos (RIFI) e hematológicos (hemograma e parasitemia pelo *T. gondii*). As colheitas de sêmen (eletroejaculação), foram realizadas nas referidas datas, sendo posteriormente realizada a pesquisa do *T. gondii* por meio da nested PCR e bioprova em camundongos. No 70º DPI, os doze felinos foram orquiectomizados, sendo em seus testículos e epidídimos avaliada a presença do parasito (nested PCR, bioprova em camundongos, análises histopatológicas e imunohistoquímicas). Todos os felinos inoculados com *T. gondii* (GI e GII), soroconverteram à infecção toxoplásmica e apresentaram picos parasitêmicos em diferentes datas experimentais pós-inoculação. Os felinos inoculados com a cepa “RH” (GII) apresentaram títulos sorológicos mais elevados que os inoculados com a cepa “P” (GI). Nestes animais (GII) também foram diagnosticados mais picos parasitêmicos e alterações clínicas que nos felídeos pertencentes ao grupo I. Em nenhuma data experimental foi diagnosticada (bioprova e nested PCR) a presença de *T. gondii* nas amostras seminais colhidas dos felinos (GI, GII e GIII), nem tampouco nos testículos e epidídimos colhidos destes animais (nested PCR, bioprova, análises histopatológicas e imunohistoquímicas). Tais resultados possibilitam inferir que a transmissão sexual, em gatos doméstico, não é uma via de infecção importante na disseminação da toxoplasmose entre felinos.

Palavras- chave: felinos, PCR, taquizoítos, toxoplasmose, transmissão sexual.

***Toxoplasma gondii* SEARCH (NICOLLE & Manceaux, 1909) IN SEMEN,
TESTICLES AND EPIDIDYMIS OF PRIME-INFECTED CATS (*Felis catus*)**

ABSTRACT - This study aimed to investigate the presence of *T. gondii* in semen, testicles and epididymis of cats experimentally infected with this coccidia. Therefore, twelve mongrel male cats of reproductive age and serologically negative for *T. gondii* were selected and divided into three experimental groups, GI: inoculated with 600 tissue cysts of *T. gondii* ("P" strain), GII : inoculated 2×10^5 tachyzoites (strain "HR"), and GIII: not inoculated (control group). Prior to inoculation (days -7 and 0) and days 7°, 14°, 21°, 28°, 42°, 56° and 70° post-inoculation (PID), all cats underwent clinical, serological (IFA) and haematological (blood count and parasitemia by *T. gondii*) examinations. Semen samples were obtained (electroejaculation) those dates, and later held the *T. gondii* search by nested PCR and bioassay in mice. On 70° PID, the twelve cats were castrated, and their testicles and epididymis were evaluated for the presence of the parasite (PCR, bioassay in mice, and histopathological and immunohistochemical analyzes). All cats inoculated with *T. gondii* (GI and GII), seroconverted to *T. gondii* infection and showed parasitemia peaks in different experimental days post inoculation. The cats inoculated with the "RH" strain (GII) had higher titers than those inoculated with the "P" strain (GI). In these animals (GII) were also diagnosed more parasitemia and clinical changes compared to those belonging to Group I. In no trial date was diagnosed (bioassay and nested PCR) the presence of *T. gondii* in semen samples taken from the cats (GI, GII and GIII), nor their testis and epididymis (PCR, bioassay, histopathological and immunohistochemical analyzes). These results make it possible to infer that sexual transmission in domestic cats is not an important route of infection in the spread of toxoplasmosis among cats.

Key words: cats, PCR, tachyzoites, toxoplasmosis, sexual transmission.

1. INTRODUÇÃO

Dentre todos os animais de estimação, os gatos domésticos juntamente com os cães, são geralmente animais de companhia de eleição ao convívio humano. Segundo Vargas (2006), os gatos merecem especial atenção quanto ao seu papel na epidemiologia e disseminação da toxoplasmose.

Em um levantamento feito por Nunes (2008), no município de Jaboticabal, SP, foram evidenciados 160 gatos em 367 residências visitadas, apresentando relação felino por residência de 1/2,29.

Devido ao crescente convívio entre homem e animais, é de suma importância atentar ao risco de infecções zoonóticas naturalmente transmitidas destes “pets” á seus respectivos proprietários (GEFFRAY; PARIS, 2001; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL PARA A SAÚDE ANIMAL-OIE, 2008). Dentre as zoonoses urbanas, se destaca a toxoplasmose, sendo uma enfermidade de distribuição cosmopolita (SANTOS et al., 1968; SILVA et al., 2001; GIRALDI et al., 2001) causada pelo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), um protozoário coccídeo, parasito intracelular obrigatório (DUBEY; BEATTIE, 1988).

Os felinos domésticos (*Felis catus*) são os principais responsáveis pela disseminação da toxoplasmose no ambiente urbano em humanos e outros animais, por serem os únicos hospedeiros definitivos do parasito habitantes neste meio (DUBEY et al., 2004). Após infectados, estes animais podem eliminar em suas fezes oocistos de *T. gondii*, formas evolutivas capazes de suportar a diferentes adversidades ambientais, podendo ser altamente infectante para diversas espécies de mamíferos e aves (LAPPIN, 1993).

A forma mais comum de infecção dos felinos domésticos com o *T. gondii*, ocorre por meio da predação de um hospedeiro intermediário infectado, ingerindo cistos teciduais do parasito (SWANGO et al., 1989).

Outra via de transmissão igualmente importante entre felinos é a congênita, sendo causadora de diversas alterações reprodutivas na espécie (DUBEY et al., 1996; SAKAMOTO et al., 2009).

Em diferentes hospedeiros intermediários, o *T. gondii* foi isolado no sêmen e órgãos reprodutivos (SPENCE et al., 1978; DUBEY; SHARMA 1980; BLEWETT et al., 1982; TEALE et al., 1982; MARTINEZ-GARCIA et al., 1996; LIU et al., 2006, MOURA et al., 2007; ARANTES et al., 2009; LOPES et al., 2009; SCARPELLI et al., 2009; MORAES et al., 2010; SANTANA et al., 2010; KOCH, 2014), sendo comprovada a transmissão sexual em algumas espécies (ARANTES et al., 2009; DE SÁ, 2011; LOPES et al. 2013; SANTANA et al. 2013, WANDERLEY et al., 2013).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico

Este parasito foi descrito do gênero *Toxoplasma* foram descritos pela primeira vez por Nicolle e Manceaux (1908), que isolaram o parasito de um roedor *Ctenodactylus gundi* no norte da África, sendo inicialmente denominado *Leishmania gondii*. No mesmo ano, no Brasil, formas evolutivas deste parasito foi identificado por Splendore em coelhos, sendo que somente no ano seguinte, denominado como *T. gondii*, baseado em sua forma arqueada (DUBEY, 1998b).

Apesar da ocorrência do parasito ter sido primeiramente relatada em 1908, seu mecanismo de transmissão só foi definido em 1970, quando seu ciclo biológico completo foi descoberto (DUBEY, 1998b).

De acordo com Tenter et al. (2000), os primeiros relatos da toxoplasmose são de 1900, com descrições de ocorrência do parasito em pardais. Em humanos, o primeiro relato do parasito ocorreu em 1923, em uma criança de 11 meses de idade com hidrocefalia congênita (JANKU, 1923). Na década de 1930 foi descoberta a transmissão vertical em humanos do parasito (WOLF; COWAN, 1937).

Em 1948, foi padronizado o diagnóstico com azul de metileno (dye test), utilizado na detecção de anticorpos contra *T. gondii*. Tal teste (SABIN; FELDMAN, 1948), revolucionou os estudos soroepidemiológicos em humanos e em várias outras espécies animais, permitindo evidenciar a grande distribuição e alta prevalência do parasito em várias regiões do mundo.

Na década de 1950 foram descritos os primeiros relatos de importância da carne na transmissão horizontal da toxoplasmose via cistos teciduais (WEINMAN; CHANDLER 1954).

Os oocistos do parasito foram identificados primeiramente em 1970 (DUBEY et al., 1970) sendo nesta década reconhecida a natureza coccidiana do *T. gondii*, devido a capacidade de um de seus estágios infecciosos estar presente no meio ambiente por meio das fezes dos gatos. No mesmo trabalho, estes pesquisadores realizaram a primeira descrição da fase sexual do ciclo biológico no intestino delgado de felídeos, reconhecendo o papel epidemiológico do gato na disseminação da doença.

Em meados de 1980, foram relatados os primeiros casos de toxoplasmose no sistema nervoso central, de pacientes com AIDS (ISRAELKI; REMINGTON, 1988).

2.2. Classificação do parasito

O *T. gondii* (NICOLLE; MANCEAUX, 1908) é um protozoário coccídeo pertencente ao reino Protista, filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina, família Sarcocystidae e subfamília Toxoplasmatinae (LEVINE et al., 1980).

2.3. Ciclo e hospedeiros

O ciclo de vida do *T. gondii* ocorre na maneira sexuada (ciclo enteroepitelial) e assexuada ou ciclo extra-intestinal (FRENKEL, 1971), sendo os animais da família Felidae, os únicos hospedeiros que permitem que este parasito complete a fase sexuada do ciclo (gametogonia) (DUBEY, 1998b). A fase assexuada (esquizogonia) pode ocorrer tanto nos hospedeiros definitivos quanto nos intermediários (LINDSAY et al., 1997).

Três formas evolutivas (taquizoítos, bradizoítos e oocistos) são consideradas estágios infectantes do agente, tanto para os hospedeiros intermediários, quanto para os definitivos (DUBEY, 1987). Os hospedeiros definitivos (felídeos) podem se infectar pela ingestão de qualquer uma das três formas evolutivas, sendo a ingestão de cistos com bradizoítos (carnivorismo), a via mais frequente e importante

de ocorrer nestes animais (SWANGO et al., 1989). Após a ingestão, no trato digestório dos felídeos, a parede do cisto ou do oocisto se rompe, por ação enzimática, liberando as formas infectantes de bradizoítos e esporozoítos, respectivamente. As formas infectantes penetram nas células epiteliais intestinais, multiplicam-se por reprodução assexuada (merogonia), havendo desenvolvimento de várias gerações (DUBEY; FRENKEL, 1972). Em seguida ocorre a reprodução sexuada, com a produção de gametas masculinos, móveis (microgametas) e de femininos, imóveis (macrogametas). Os macrogametas permanecem nas células e os microgametas saem e vão ao encontro dos primeiros, ocorrendo a fecundação e formação do zigoto, que se desenvolve em oocisto imaturo (não infectante). Estes são eliminados com as fezes, se tornando infectantes (esporulados) após quatro dias, dependendo de condições de umidade e temperatura (DUBEY et al., 1970).

O termo taquizoíto (“tachos”, do grego, rápido) descreve o estágio no qual o *T. gondii* se multiplica rapidamente em qualquer célula do hospedeiro (intermediário/definitivo), destacando-se o sistema mononuclear fagocitário, células do parênquima de vários órgãos e nas células epiteliais intestinais do hospedeiro (FRENKEL, 1973). Essa replicação ocorre até que a célula hospedeira parasitada seja destruída, liberando novos taquizoítos que adentram em uma nova célula hospedeira reiniciando a replicação (PETRAK; CARPENTER, 1965).

A presença de taquizoítos caracteriza a fase aguda da infecção toxoplásmica (DUBEY et al., 1970; SHERDING, 1998) e são epidemiologicamente importante, pois são as formas evolutivas transmitidas verticalmente, na gestação, representando um grave problema em Saúde Pública (DUBEY; BEATTIE, 1988).

Durante a replicação, os taquizoítos invadem células nucleadas (com maior afinidade por células musculares e nervosas), distribuindo-se praticamente por todo organismo (via circulação sanguínea) ou se difundindo de uma célula (macrófagos, linfócitos ou granulócitos) para outra, podendo ser também encontrados em líquidos orgânicos (DUBEY, 1987). Os taquizoítos utilizam-se de estruturas de superfície e do complexo apical para penetrar na célula hospedeira. Ao aderir à célula, por meio de receptores de superfície, o protozoário orienta seu complexo apical de forma a criar uma junção intracelular, formando um vacúolo (HUYNH et al., 2003). Esse

modo de invasão usa um mínimo de exposição de antígenos, o que dificulta o reconhecimento pelo sistema imune (HIRAMOTO et al., 2001). Desta forma, o parasito replica-se rapidamente e se dissemina por meio da corrente sanguínea para vários tecidos como o sistema nervoso central (SNC), olhos, placenta, músculo esquelético e cardíaco (MONTROYA; LIENSENFELD, 2004).

Com o avanço da infecção, o hospedeiro começa a desenvolver uma resposta imune que atua sobre a multiplicação dos taquizoítos, os quais passam a dividir-se mais lentamente, sendo então denominados bradizoítos e que se encontram confinados em forma de cisto no interior do tecido parasitado, protegidos contra a ação do sistema imune hospedeiro (DUBEY et al., 1970).

Os bradizoítos são mais comumente encontrados nos tecidos neurais e musculares, incluindo o cérebro, os olhos, músculos esqueléticos e cardíacos, e sua presença, indica a fase crônica da infecção (DUBEY et al., 1970), que pode perpetuar-se por toda vida do hospedeiro (HAY; HUTCHINSON, 1983). O cisto tecidual é a principal forma infectante para carnívoros, pois, segundo Sherding (1998), mesmo após a morte do hospedeiro, o cisto mantém a capacidade de transmitir a doença.

2.4. Vias de transmissão

As principais vias de transmissão do *T. gondii* para o ser humano incluem a infecção transplacentária por meio de taquizoítos circulantes, sendo mais frequente no terço final da gestação (FRENKEL, 1973; DUBEY; TOWLE, 1986; MAMIDI et al., 2002); a ingestão de água (ARAMINI et al., 1998; ARAMINI et al., 1999), ou alimentos contaminados com oocistos esporulados oriundos das fezes de felídeo e, ainda, a ingestão de cistos teciduais em carnes cruas ou mal cozidas (DA SILVA et al., 2000).

Outras formas de transmissão, porém com menores frequências, incluem acidentes laboratoriais (WONG; REMINGTON, 1993), transplantes de órgãos (MUNIR et al., 2000), ingestão de leite não pasteurizado contendo taquizoítos (SACKS et al., 1982; CHIARI et al., 1984) e transfusão sanguínea (FIGUEROA-DAMIAN, 1998).

Outra via alternativa de transmissão de toxoplasmose foi descrita por Lindsay et al. (1997), que determina o contato com cães, uma fonte de infecção, devido ao comportamento desta espécie de ingerir e rolar sobre fezes de gatos contaminadas com oocistos de *T. gondii*. Este comportamento é denominado como xesnomofilia, possibilitando a transmissão do parasito para o humano, devido a possível presença de oocistos na pelagem desses animais.

Em animais, a infecção do *T. gondii* por via trans placentária, que está intimamente ligada a ocorrência de abortos, natimortos e nascimento de fetos debilitados como evidenciados por diferentes autores (DUBEY et al., 1996; BRESCIANI et al., 1999; SAKAMOTO et al., 2009, COSTA et al., 2011; SILVA et al., 2014).

A via sexual é outra forma de transmissão do *T. gondii* comprovada em diferentes espécies animais (ARANTES et al., 2009; DE SÁ, 2011; LOPES et al. 2013; SANTANA et al. 2013, WANDERLEY et al., 2013). Em diferentes trabalhos realizados nesta linha de pesquisa, foi comprovada a ocorrência de formas infectantes de *T. gondii* no sêmen de ovinos (SPENCE et al., 1978, BLEWETT et al., 1982, TEALE et al., 1982, LOPES et al., 2009, MORAES et al., 2010), caprinos (DUBEY; SHARMA, 1980, SANTANA et al., 2010), humanos (MARTINEZ-GARCIA et al., 1996), suínos (MOURA et al., 2007), bovinos (SCARPELLI et al., 2009) e cães (ARANTES et al., 2009; KOCH, 2014), originando discussões sobre a importância da transmissão venérea em diferentes espécies animais, até então desconhecida.

Spence et al. (1978) ao inocular *T. gondii* em dois ovinos diagnosticaram a presença do parasito no sêmen de um dos animais no 20º DPI, e no outro no 20º e 25º DPI.

Por meio da bioprova em camundongos, Dubey e Sharma (1980) isolaram *T. gondii* a partir de amostras de seminais de caprinos experimentalmente infectados via oral com oocistos, sendo diagnosticada a eliminação seminal do parasito nos primeiros 52 dias pós-infecção.

Em ovinos experimentalmente infectados (LOPES et al., 2009) foram observadas alterações clínicas como hipertermia e apatia, além da presença do DNA de *T. gondii* em amostras seminais colhidas em diferentes datas após a inoculação.

Neste estudo ainda foi comprovada a presença do parasito em tecidos reprodutivos (testículo, epidídimo, vesícula seminal e próstata) de alguns dos animais infectados.

A eliminação de *T. gondii* no sêmen de ovinos, foi também confirmada por meio da técnica de nested-PCR, em animais naturalmente infectados pelo parasito, sendo diagnosticada a presença do DNA do coccídeo em 66% das amostras colhidas (MORAES et al., 2010).

Resultados similares foram obtidos em suínos (MOURA et al., 2007) e touros (SCARPELLI et al., 2009), sendo diagnosticada a presença do parasito no sêmen (diferentes datas pós-inoculação) e em tecidos reprodutivos como testículo, epidídimo e vesícula seminal.

Em cães infectados experimentalmente com *T. gondii*, foi diagnosticada a presença do parasito em ejaculados esporádicos, sendo também evidenciada por meio de análises imunohistoquímicas, a ocorrência do parasito em fragmentos de testículos e epidídimos (ARANTES et al. 2009).

2.5. Toxoplasmose em gatos

Em gatos criados dentro de casa, que não se alimentam de carne crua, o risco de infecção pelo *T. gondii* é menor, diferentemente de felinos errantes, que apresentam maior risco de infecção pelo parasito (JONES et al., 2001).

Após a primoinfecção com *T. gondii*, gatos domésticos podem eliminar até 1.000.000 oocistos/g de fezes (DUBEY; BEATTIE, 1988; SHERDING, 1998). De acordo com Brown et al. (2003), os gatos eliminam oocistos por dias após a ingestão de cisto tecidual, e por semanas após a ingestão de oocisto esporulado, sendo esta excreção sempre no final do ciclo enteroepitelial do parasito.

Os oocistos excretados pelos felinos são muito resistentes a condições climáticas, podendo ficar viáveis no ambiente por até dois anos (FREYRE et al., 1993; LAPPIN, 1993). Eles desempenham um papel fundamental na epidemiologia da toxoplasmose, sendo considerados a principal fonte de infecção toxoplásmica para os animais herbívoros (LANGONI et al., 2001).

Antes de se tornarem infectantes os oocistos devem esporular, fato que ocorre entre um a cinco dias após a excreção. Quando esporulados os oocistos

medem 12x10 micrometros, possuindo dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada (ZAMAN, 1970). As condições ambientais ideais para que os oocistos se tornem infectantes (esporulados), são temperatura de 20°C e umidade de 65%. (LINDSAY et al.,1997).

Os oocistos de *T. gondii* podem ser disseminados no ambiente por meio da água, do vento e hospedeiros de transporte. Este estágio parasitário é altamente resistente a diferentes reagentes químicos, permanecendo viáveis em ácido sulfúrico a 2% ou em dicromato de potássio a 2,5%, e por vários anos a uma temperatura de 4°C. Também são resistentes a soluções desinfetantes, como hipoclorito de sódio podendo estar presentes em alimentos humanos e animais, não higienizados. Sob temperatura de -20°C podem sobreviver, na água, até 28 dias, e a 37°C até 306 dias (DUMÈTRE; DARDÉ, 2003).

O risco de ter um felino como animal de estimação, ter contato ou trabalhar com estes animais não constitui risco de aquisição de toxoplasmose (REIF, 1980), pelo hábito destes enterrarem suas fezes. Jones et al.(2001) atribuíram o risco de infecção humana a felinos errantes, já que estes animais podem contaminar parques públicos com fezes contendo oocistos.

As prevalências de infecção pelo *T. gondii* em gatos podem ser variáveis dependendo do número de amostras analisadas, do método utilizado, da área geográfica estudada e dos hábitos alimentares da população em estudo (DUBEY; BEATLE, 1988; VELASCO et al., 1992, LANGONI et al., 2001).

O ambiente de criação dos felinos é um fator preponderante para que ocorra a infecção toxoplásmica nesta espécie animal, esperando maior prevalência da toxoplasmose em gatos provenientes de áreas rurais do que urbanas (DUBEY, 2010). Maior taxa de infecção pode também ser detectada em gatos semi-domiciliados e errantes, pois estes tendem a caçar mais do que felinos domiciliados (DUBEY, 1994). A idade dos felinos é outro fator importante, sendo indivíduos mais velhos mais propensos a infecção pelo *T. gondii*, devido às maior possibilidade de exposição ao parasito ao decorrer dos anos (DUBEY, 1994).

Na Tabela 1 estão expressos resultados sorológicos sobre a frequência da infecção toxoplásmica em gatos em diferentes regiões do mundo.

Tabela 1. Percentuais de positividade da infecção toxoplásmica em gatos no mundo de acordo com o autor e ano da descrição do estudo, local e técnica sorológica utilizada.

Autores	Ano	Local	Técnica utilizada	% de Positivos
Sogorb et al.,	1972	Brasil	SF	50,8
Mendez et al.,	1983	Brasil	HAI	24,0
Santos et al.,	1983	Brasil	HAI	59,0
Chaplin et al.,	1984	Brasil	HAI	40,7
Rosa et al.,	1987	Brasil	RIFI	25,9
Bracini et al.,	1992	Brasil	HAI	10,2
Lucas et al.,	1998	Brasil	ELISA	27,8
Garcia et al.,	1999	Brasil	RIFI	73,0
Lucas et al.,	1999	Brasil	RIFI	17,7
Summer; Ackland,	1999	Austrália	ELISA	39,0
Langoni et al.,	2001	Brasil	RIFI	19,4
Meireles,	2001	Brasil	ELISA	40,0
De Feo et al.,	2002	EUA	MAT	42,0
Dorny et al.,	2002	Bélgica	MAD	70,2
Dubey et al.,	2002	EUA	MAT	48,0
Silva et al.,	2002	Brasil	MAT	26,3
Silva et al.,	2002	Brasil	RIFI	18,0
			MAD	19,0
Araújo et al.,	2003	Brasil	HAI	37,0
Gauss et al.,	2003	Espanha	MAT	45,0
Maruyama et al.,	2003	Japão	MAT	5,4
Netto et al.,	2003	Brasil	HAI	19,5
			ELISA	2,55

Convenções: RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta; ELISA: Reação de Ensaio. Imunoenzimático; MAT: Teste de Aglutinação Modificada; LAT: Teste de Aglutinação em Látex. SF: teste de Sabin-Feldman. HAI: Hemaglutinação Indireta. MAD: método de aglutinação direta.

Continua na próxima página.

Tabela 1. Percentuais de positividade da infecção toxoplásmica em gatos no mundo de acordo com o autor e ano da descrição do estudo, local e técnica sorológica utilizada (continuação).

Autores	Ano	Local	Técnica utilizada	% de Positivos
Cavalcante et al.,	2006	Brasil	MAT	87,3
			RIFI	87,3
Dubey et al.,	2004	Brasil	MAT	84,4
Meirelles et al.,	2004	Brasil	HAI	17,0
			ELISA	40,0
Miró et al.,	2004	Espanha	RIFI	32,3
Vollaire et al.,	2005	EUA	ELISA	31,6
Afonso et al.,	2006	França	MAT	18,6
Dubey et al.,	2006	Colômbia	MAT	45,3
Jittapalapong et al.,	2006	Tailândia	LAT	11,0
Pena et al.,	2006	Brasil	MAT	35,4
Vargas,	2006	Brasil	RIFI	17,2
Bresciani et al.,	2007	Brasil	RIFI	25,0
Cruz,	2007	Brasil	RIFI	16,3
Pinto,	2007	Brasil	HAI	26,9
			RIFI	37,9
Besn��-Mérida et al.,	2008	México	ELISA	21,8
Craeye et al.,	2008	Bélgica	RIFI	25,0
Lopes et al.,	2008	Portugal	MAT	35,8
Sharif et al.,	2009	Iran	LAT	40,0
A-Kappany et al.,	2011	Egito	MAT	95,5
Cruz et al.,	2011	Brasil	RIFI	16,3
Kulasena et al.,	2011	Sri Lanka	MAT	30,2
Rosa et al.,	2010	Brasil	RIFI	14,3
Hong et al.,	2013	Korea	Elisa	2,2
Cerro et al.,	2014	Peru	HAI	11,0

Convenções: RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta; ELISA: Reação de Ensaio. Imunoenzimático; MAT: Teste de Aglutinação Modificada; LAT: Teste de Aglutinação em Látex. SF: teste de Sabin-Feldman. HAI: Hemaglutinação Indireta. MAD: método de aglutinação direta.

2.6. Justificativa

Os felídeos podem eliminar nas fezes oocistos de *T. gondii*, formas evolutivas aperfeiçoadas pela seleção natural para suportar as adversidades ambientais, podendo ser altamente infectantes para diversas espécies de mamíferos e aves.

Deve-se lembrar que o gato é um dos animais domésticos de mais íntimo convívio com o ser humano. Assim sendo, investigações relativas à toxoplasmose, nesta espécie, são fundamentais, tendo em vista o potencial zoonótico desta enfermidade e sua patogenicidade em animais de produção e de estimação.

Além da importância da transmissão transplacentária e suas sequelas para as mulheres gestantes, também há o risco de aquisição desta enfermidade na vida pós-natal. Já foram comprovados distúrbios reprodutivos, como aborto e mortalidade neonatal, em pequenos ruminantes, suínos, cães e principalmente gatos domésticos, enfatizando, assim, a relevância do estudo da toxoplasmose nesta espécie animal.

Vale salientar que não foi encontrado na literatura consultada trabalhos sobre isolamento de *T. gondii* no sêmen de felinos (hospedeiros definitivos) e possível transmissão sexual deste parasito, nesta espécie animal, fato já comprovado em diferentes hospedeiros intermediários.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Pesquisar a eliminação de formas infectantes do *T. gondii* em sêmen, testículos e epidídimos de gatos primoinfectados com as cepas “P” e “RH” deste parasito.

3.2. Específicos

Avaliar os parâmetros clínicos e hematológicos (hemograma) em felinos primoinfectados com as cepas “P” e “RH” de *T. gondii*.

Descrever os principais sinais clínicos evidenciados nos felinos experimentais primoinfectados com o *T. gondii*.

Diagnosticar, por meio da bioprova em camundongos, surtos parasitêmicos do parasito em diferentes datas pós-inoculação.

Avaliar a recíproca sorológica (IgG) dos reprodutores felinos após primoinfecção com *T. gondii*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Bem estar animal

Este estudo foi realizado obedecendo todos os requisitos de bem estar e saúde animal.

O número de felinos propostos por grupo experimental, visou utilizar o mínimo de indivíduos possíveis, tendo em vista que a inoculação de *T. gondii* apresenta um risco potencial ao bem estar dos animais.

Todo manejo dos felinos experimentais foi realizado de acordo com o projeto previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/ FCAV/ UNESP, Campus Jaboticabal, SP (Protocolo nº 024137/13).

4.2. Locais de realização do estudo

Toda fase experimental com os animais (seleção e inoculação dos felinos, e colheitas de amostras), a RIFI e a bioprova em camundongos, foram conduzidas no CPPAR – Centro de Pesquisas em Sanidade Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV/UNESP-Campus de Jaboticabal, SP.

As análises moleculares (nested PCR), realizadas nas amostras seminais e teciduais (testículos e epidídimos), colhidas dos felinos experimentais, foram realizadas no CPPAR/FCAV/UNESP, juntamente com o Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ/UNESP - Botucatu, SP.

No CPPAR/FCAV/UNESP também foram realizados os exames histopatológicos e imunohistoquímicos, nas amostras de testículos e epidídimos colhidos dos felinos, sendo as lâminas confeccionadas no Laboratório de Imunohistoquímica do Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, SP.

4.3. Cepas de *T. gondii*

Foram utilizadas as cepas “P” (isolado tipo III) e “RH” (isolado tipo I), ambas mantidas em camundongos, no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP).

4.4. Obtenção dos taquizoítos de *T. gondii* e preparação do inóculo

Para a obtenção do inóculo contendo taquizoítos de *T. gondii*, foram utilizados 10 camundongos albinos suíços (*Mus musculus*) que receberam, via intraperitoneal, taquizoítos de *T. gondii* (cepa RH).

Decorridos dois dias da inoculação (+/- 48 horas), estes camundongos foram eutanasiados, sendo, realizados lavados intraperitoneais com injeção de 3 mL de solução fisiológica estéril, seguida de aspiração deste exsudato. Estes lavados intraperitoneais foram examinados sob microscopia óptica (objetiva de 40X), visando constatar a ausência de bactérias e células sanguíneas dos roedores. A seguir, os taquizoítos, presentes no exsudato aspirado, foram quantificados em câmara de Neubauer, ajustando a quantidade de células parasitárias para cada inóculo (taquizoítos/solução fisiológica). Os inóculos foram padronizados no dia da infecção dos felinos, realizada segundo a metodologia descrita por Costa et al. (1977).

4.5. Obtenção dos cistos de *T. gondii* (cepa “P”) e preparação do inóculo

Camundongos albinos suíços, com idade média de 35 dias, foram inoculados intraperitonealmente com aproximadamente 10 cistos (cepa “P”) cada e observados diariamente até o 42º dia pós-inoculação, quando foram eutanasiados por deslocamento cervical (BRASIL, 2013).

Após esse procedimento, estes roedores foram posicionados em decúbito esternal, onde com o auxílio de pinça e tesoura, cada encéfalo foi removido e transferido para um tubo falcon (15 mL) juntamente com aproximadamente 1 mL de solução fisiológica estéril, onde foram macerados com auxílio de um bastão de vidro.

Da solução resultante, foi retirada uma alíquota de 50 µL, sendo esta examinada com auxílio de um microscópio óptico (objetiva de 40X), para identificação e quantificação dos cistos de *T. gondii* presentes.

A preparação dos inóculos contendo os cistos de *T. gondii* foi realizada por meio de diluição da solução anteriormente citada, em solução fisiológica estéril, ajustando assim a quantidade de cistos que foi administrada por felino.

4.6. Origem e destino dos felinos experimentais

Todos os felinos selecionados para este estudo, foram obtidos de gatos particulares, gentilmente cedidos pelos seus respectivos proprietários, permanecendo após o término do estudo, no CPPAR/FCAV/UNESP, sendo destinados à doação.

4.7. Seleção e constituição dos grupos experimentais de felinos

Para realização deste estudo, foram selecionados 12 gatos machos saudáveis, sem raça definida, com idade entre um a quatro anos, e soronegativos para infecção por *T. gondii*. Para tanto, soros de 39 gatos provenientes do município de Jaboticabal-SP, foram submetidos à pesquisa de anticorpos (IgG) anti-*T. gondii* por meio da técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI título <16).

No processamento da RIFI utilizou-se como controles negativo e positivo, duas amostras sorológicas felinas previamente conhecidas, que serviram de referência para a leitura da reação.

Os 12 gatos selecionados foram identificados com números em suas baias, vacinados contra a (raiva, clamidiose, rinotraqueíte, panleucopenia e calicivirose), sendo desverminados com praziquantel (20mg) e pamoato de pirantel (230mg) e distribuídos, por sorteio, em três grupos experimentais, conforme a Tabela 2.

4.8. Alojamento dos animais e período de aclimação

A partir da formação dos três grupos experimentais (GI, GII e GIII), estes foram mantidos até o término do estudo, em ambientes separados no CPPAR/FCAV/UNESP. Cada felino permaneceu isoladamente em gaiolas metálicas, providas de comedouro, bebedouro, plataforma para descanso e brinquedos.

Um período prévio de aclimação (30 dias) foi realizado, para que os felinos experimentais se adaptassem às condições de alojamento e nutrição proposta no estudo.

4.9. Inoculação dos gatos com *T. gondii*

Os animais foram inoculados conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição dos grupos experimentais, inóculos utilizados e via de inoculação. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Grupos Experimentais	Nº de gatos	Resultado Sorológico (RIFI*) para Toxoplasmose	Dose dos Inóculos	Via de inoculação
I	4	Negativos	600 cistos	Oral
II	4	Negativos	2×10^5 taquizoítos	Subcutânea
III	4	Negativos	-	-

* Imunofluorescência Indireta (CAMARGO, 1964) para *T. gondii*.

Os animais pertencentes ao grupo um (GI), receberam, via oral, 600 cistos (cepa "P") de *T. gondii*, diluídos em uma solução fisiológica. Tal inóculo, foi administrado com auxílio de uma sonda acoplada a uma seringa de 10mL. Logo após a administração, a seringa foi novamente preenchida com 10mL de solução fisiológica, que foi também administrada ao felino, visando a retirada do inóculo remanescente da seringa e sonda segundo metodologia descrita por Costa et al. (1977).

Os reprodutores felinos do grupo dois (GII) foram inoculados, via parenteral subcutânea (região dorsal) com 2×10^5 taquizoítos de *T. gondii* (cepa “RH”), utilizando-se uma seringa de 1 mL e agulha 21G, após prévia desinfecção local com álcool iodado (0,1%).

Os felinos pertencentes ao grupo três (GIII) não foram inoculados, permanecendo como controle do estudo.

4.10. Medidas de segurança pessoal e desinfecção das instalações

Todo o pessoal envolvido neste estudo, tinha conhecimentos sobre o parasito, inclusive medidas básicas de prevenção e riscos da infecção. Em todos os procedimentos experimentais foram adotadas medidas de segurança pessoal, sendo utilizados, quando necessário, equipamentos de proteção individual (EPIs) como: luvas, jalecos, gorros, propés, máscaras e óculos de proteção.

Os comedouros e bebedouros foram lavados todos os dias com detergente neutro, antes do fornecimento de alimentação.

4.11. Manejo nutricional dos gatos

Diariamente os felinos receberam ração comercial e água potável, fornecidas “*ad libitum*”.

4.12. Observações clínicas diárias dos felinos

Observações gerais de saúde foram realizadas diariamente em todos os felinos experimentais, visando constatar a ocorrência de qualquer anormalidade clínica, decorrente ou não, da infecção por *T. gondii*.

4.13. Exames coproparasitológicos

Exames coproparasitológicos, foram realizados diariamente utilizando-se as amostras fecais dos felinos pertencentes ao grupo I, excretadas do 1º ao 17º DPI. Para tanto, as excretas totais dos reprodutores felinos foram colhidas diretamente das caixas de areia, pesadas, e submetidas (dois gramas) à técnica de centrifugo Flutuação em solução de Sheather.

Ao material restante, foi acrescida uma solução de ácido sulfúrico a 2%, permanecendo em temperatura ambiente, sendo homogeneizado mecanicamente duas vezes por dia, durante 10 dias até a completa esporulação dos oocistos (DUBEY et al., 1972).

Na sequência, as amostras de fezes de cada animal foram submetidas a sucessivas centrifugações com água destilada para lavagem e remoção completa do ácido sulfúrico. Desta forma, os sedimentos formados foram estocados em temperatura de refrigeração (4°C) e imersos em solução salina para posterior pesquisa, identificação e quantificação dos oocistos esporulados em câmara de Neubauer, de acordo com a técnica descrita por Costa et al. (1977).

A identificação dos oocistos esporulados foi realizada sob microscopia de luz, com objetiva micrométrica de 400X, utilizando-se critérios morfológicos (ZAMAN, 1970), e por meio de inoculações intraperitoneais em camundongos (DUBEY et al., 1972).

4.13.1 Bioprova em camundongos: inoculação de oocistos de *T. gondii*

As amostras comprovadamente positivas quanto a presença de oocistos esporulados (microscopia óptica), foram adicionadas de ampicilina (1 mg/mL) e inoculadas (via intraperitoneal) cada uma, em grupos de cinco camundongos (DUBEY et al., 1972).

Os roedores inoculados foram observados diariamente por 42 dias avaliando o surgimento da infecção toxoplásmica (COSTA et al., 1977). Após este período, os camundongos sobreviventes foram eutanasiados sendo pesquisada a presença de

anticorpos (IgG) contra *T. gondii* por meio da RIFI (CAMARGO, 1964) com diluição 1:32, e ainda, a presença de cistos cerebrais do parasito.

Dos roedores que vieram a óbito, do 3° ao 10° dia pós-inoculação, foram colhidos os exsudatos intraperitoneais para pesquisa de taquizoítos por meio de microscopia.

Nos camundongos que morreram do 11° ao 42° dia pós-inoculação, além da pesquisa de taquizoítos intraperitoneais, realizou-se exame sorológico (RIFI) para detectar anticorpos (IgG) contra *T. gondii*, e a pesquisa de cistos cerebrais do parasito.

4.14. Resposta Imune humoral

De cada felino (GI, GII e GIII) foram colhidas por venopunção femural, amostras sanguíneas (1mL), as quais foram acondicionadas em tubos estéreis (desprovidos de anticoagulante) anteriormente à inoculação (dia -7 e 0) e no 7°, 14°, 21°, 28°, 42°, 56° e 70° dia pós-inoculação (DPI). Estas amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 10 minutos, para obtenção das amostras séricas destinadas à realização da RIFI (CAMARGO, 1964).

Constatada a soroconversão dos felinos (título IgG > 64), foram realizadas ainda, diluições seriadas, visando assim titular a recíproca sorológica de anticorpos (IgG) anti-*T. gondii* em cada felino experimental.

4.14.1. Confeções das lâminas com antígenos de *T. gondii*

A confecção das lâminas com antígeno de *T. gondii* foi realizada a partir dos exsudatos contendo taquizoítos aspirados do peritônio de camundongos infectados com a cepa RH (+/- 48 horas pós-inoculação).

Este exsudato foi mantido em solução salina estéril acrescida de heparina, sendo fixado em formol a 0,5%, em estufa a 37°C, por 30 minutos. Após esta incubação, o antígeno foi centrifugado a 1500 rpm, por 10 minutos, sendo descartado o sobrenadante. O sedimento resultante foi suspenso em PBS (pH 7.2) e

centrifugado (10 minutos a 1500 rpm), sendo novamente descartado o sobrenadante.

Posteriormente, no sedimento foram quantificados os taquizoítos (objetiva de 40X), diluídos (PBS pH 7.2), até totalizar 20 a 30 parasitos por campo de microscopia.

Para confecção das lâminas, 10 µL da suspensão de taquizoítos, foi colocado em cada poço das lâminas (Perfecta - 25,4 x 76,2mm – 12 circ.F.LAP.Trans; Verde), aguardando a completa secagem deste material em temperatura ambiente. A seguir, as lâminas contendo o antígeno fixado, foram mantidas em caixas (porta lâminas) a -20°C, até o momento da realização da RIFI.

4.14.2. Realização da RIFI

Todas RIFI realizadas neste estudo foram realizadas em duplicata, para melhor confiabilidade dos resultados.

Previamente, os soros dos felinos a serem examinados, foram diluídos em PBS (pH 7.2), respeitando-se no período pós inoculação dos felinos a diluição 1:64. Posteriormente, 10 µL de cada amostra sorológica diluída (1:64), foram depositados no poço da lâmina contendo o antígeno. As lâminas, assim preparadas, foram acondicionadas em câmara úmida e incubadas a 37°C por 40 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em tampão PBS (pH 7.2), e colocadas para secar (estufa a 37°C).

A seguir, sob proteção da luz, foram adicionados 10 µL do conjugado anti-IgG de gatos (Sigma Chemical – IgG-FITC), marcado com isotiocianato de fluoresceína diluído (1:64) em PBS (pH 7.2), sendo as lâminas novamente acondicionadas em câmara úmida e incubadas a 37°C por 40 minutos.

Ao término da incubação, as lâminas foram submetidas a uma nova lavagem com PBS (pH 7.2), e secadas em estufa.

Após a secagem definitiva das lâminas, uma gota de glicerina tamponada acrescida de azul de Evans (0,2%), foi adicionada às mesmas, sendo recobertas com lamínulas e examinadas em microscópio equipado para fluorescência (objetiva de 40X) em ambiente escuro.

Como controles positivos e negativos de cada reação, foram utilizados soros previamente conhecidos quanto a positividade.

4.15. Exames clínicos e laboratoriais nos felinos

As frequências cardíaca e respiratória, e temperatura retal de cada felino (GI, GII e GIII) foram aferidas antes da inoculação (dia -7 e 0) e no 7º, 14º, 21º, 28º, 42º, 56º e 70º DPI.

Nestas datas foram também realizadas colheitas de sangue (1mL/ felino) com anticoagulante (EDTA), para realização de hemograma em contador automático, com exceção da contagem diferencial de leucócitos, realizada por meio de leitura microscópica (aumento 1000x) de esfregaços sanguíneos corados com panótico rápido.

Os parâmetros de normalidade adotados nos exames clínicos e hematológicos, seguiram respectivamente, os valores de referência descritos por Feitosa (2008) e Thrall (2007).

4.16. Determinação de parasitemia

Parasitemia por *T. gondii*, foi avaliada, nos gatos experimentais, anteriormente à inoculação (dia -7 e 0) e no 7º, 14º, 21º, 28º, 42º, 56º e 70º DPI (COSTA et al., 1977). Nestas datas experimentais, foram colhidas dos felinos (GI, GII e GIII) amostras sanguíneas (1mL), e transferidas para um tubo eppendorf (2mL), contendo anticoagulante (EDTA). Para obtenção da camada leucocitária, as amostras sanguíneas foram submetidas à centrifugação (1500 rpm por 10 minutos), sendo aspirada com auxílio de uma pipeta, a camada leucocitária (intermediária entre o plasma e as hemácias). Após obtenção, cada camada leucocitária foi inoculada intraperitonealmente com auxílio de seringa e agulha, em cinco camundongos (bioprova).

Depois da inoculação, os camundongos foram observados diariamente durante 42 dias. Dos roedores que vieram a óbito, do 3º ao 10º dia pós-inoculação,

foram colhidos os exsudatos intraperitoneais para pesquisa de taquizoítos por meio de microscopia.

Nos camundongos que morreram do 11° ao 42° dia pós-inoculação, além da pesquisa de taquizoítos intraperitoneais, realizou-se exame sorológico (RIFI) para detectar anticorpos (IgG) contra *T. gondii*, e a pesquisa de cistos cerebrais do parasito. Foram considerados como amostras positivas (RIFI), os soros dos camundongos que apresentassem títulos iguais ou superiores a 32 (CAMARGO, 1964).

4.17. Colheitas de sêmen

As colheitas de sêmen dos felinos foram realizadas nos dias -7 e 0 antes da inoculação e no 7°, 14°, 21°, 28°, 42°, 56° e 70° DPI.

O método adotado para a colheita de sêmen dos felinos foi a eletroejaculação pós-anestesia dos animais. Para tal, utilizou-se um eletroejaculador acoplado a um transdutor cilíndrico retal (12,0 cm x 1,0 cm de diâmetro) (Figura 1), provido de três tiras longitudinais de aço inoxidável (eletrodos), cada uma delas possuindo cinco centímetros de comprimento.

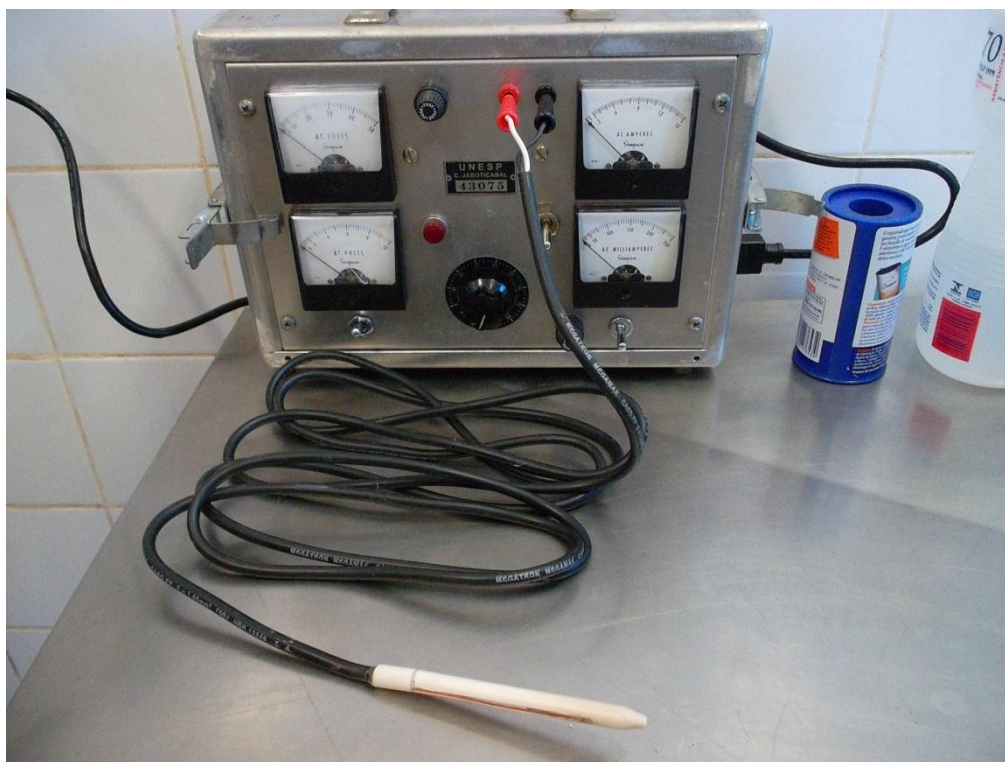


Figura 1. Eletroejaculador e transdutor cilíndrico (probe), utilizados na colheita de sêmen dos felinos.

Previamente à cada colheita (Figura 2), os animais foram pesados, sendo administrado Zoletil® 50 (cloridrato de tiletamina - 125,0mg e zolazepam - 125,0 mg), na dose de 5 mg/Kg, via intramuscular. Após a entrada em plano anestésico, os animais foram posicionados em decúbito lateral, aplicando-se uma suave pressão na base do pênis para sua exposição, sendo posicionado um tubo coletor (ependorf) para a colheita do sêmen.

O protocolo utilizado na estimulação elétrica foi o descrito por Howard et al. (1984), com algumas modificações que mostraram resultado satisfatório: a sonda transretal previamente lubrificada (KMed Gel-lubrificante) foi introduzida cerca de cinco a sete centímetros no assoalho da ampola retal de cada animal, sendo aplicados 40 estímulos elétricos crescentes de 2 a 3 V, divididos em duas séries de 20 estímulos cada. Cada estímulo permaneceu cerca de três segundos na voltagem desejada, com um intervalo de aproximadamente dois segundos. A quantificação destes estímulos foi realizada de acordo com a resposta do animal em relação a ereção peniana e a ejaculação.

Cada amostra de sêmen obtida pela técnica acima descrita, foi dividida em duas alíquotas equivalentes, sendo uma utilizada na pesquisa do *T. gondii* por meio de análise molecular (nested PCR), e a outra na pesquisa do agente por meio da bioprova em camundongos.



Figura 2. Colheita de sêmen felino. A e B: brobe (previamente lubrificada) posicionada no reto do felino. C: tubo coletor posicionado para colheita de sêmen. D: tubo com a amostra seminal colhida.

4.18. Pesquisa de *T. gondii* no sêmen dos gatos

As pesquisas de *T. gondii* nas amostras seminais colhidas foram realizadas por meio das técnicas de bioprova em camundongos (COSTA et al., 1977) e da nested PCR (SILVA et al., 2009).

4.18.1. Bioprova em camundongos (sêmen)

Em cada alíquota amostral de sêmen destinada a pesquisa de *T. gondii* por meio da bioprova em camundongos, foram adicionados 0,5 mL de solução fisiológica, acrescida de ampicilina (1 mg/mL).

Cada amostra seminal diluída foi inoculada, via intraperitoneal, em cinco camundongos. Os camundongos inoculados foram observados diariamente 42 dias (COSTA et al., 1977), para avaliação da presença de sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose. Neste período, os camundongos que apresentaram pelos arrepiados foram eutanasiados e pesquisada a presença de taquizoítos no exsudato peritoneal. Nos roedores sobreviventes após seis semanas, foi avaliada a ocorrência de anticorpos (IgG) contra *T. gondii* por meio da RIFI (CAMARGO, 1964), além de cistos cerebrais (microscopia óptica).

4.18.2. Pesquisa do DNA de *T. gondii* no sêmen por meio da nested PCR

As alíquotas de cada amostra seminal felina foram devidamente armazenadas (-20°C) “in natura” logo após a colheita, para posterior análise pela técnica de nested PCR (SILVA et al., 2009).

4.18.2.1. Extração de DNA (sêmen)

A extração e purificação do DNA das amostras seminais foram realizadas utilizando-se o kit de extração Illustra blood Prep Mini spin kit (GE Healthcare Life Sciences do Brasil Ltda®, Brasil), conforme instruções do fabricante.

4.18.2.2. Nested PCR (sêmen)

Em todas as amostras de DNA genômico extraído, pesquisou-se a presença do DNA de *T. gondii* por meio da nested PCR (SILVA et al., 2009).

Para tanto, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores específicos para amplificação de fragmentos do gene codificador da subunidade 18S do RNA

ribossômico, Tg18s48F (5'CCATGCATGTCTAAGTATAAGC3') e Tg18s359R (5'GTTACCCGTCCTGCCCAC3') na reação primária, e Tg18s58F (5'CTAAGTATAAGCTTTTATACGGC3') e Tg18s348R (5'TGCCACGGTAGTCCAATAC3') na reação secundária amplificando uma região de 290 pares de base (pb).

Ambas reações (primária e secundária) foram realizadas em um termociclador Master Cycler EP gradient, sob as mesmas condições de amplificação: desnaturação inicial de 95°C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos com desnaturação a 94°C por 30 segundos, pareamento a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 2 minutos, seguida de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Como controle positivo utilizou-se uma amostra de DNA extraído de taquizoítos da cepa RH de *T. gondii*.

4.18.2.3. Eletroforese em gel de agarose

Alíquotas de 10µL das amostras amplificadas foram homogeneizadas com 3µL de solução de azul de bromofenol e submetidas à eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5% em tampão tris-borato-EDTA (TBE) 1x, adicionado de 2µL de brometo de etídio.

Adicionalmente as amostras, utilizou-se marcador de peso molecular (Life Technologies, EUA).

A corrida foi realizada inicialmente a 80 voltz por 60 minutos. Após a corrida, o produto da amplificação foi visualizado em sistema de foto documentação digital (Sistema Gel-Doc it18), sob luz ultra-violeta, e fotografado.

4.19. Pesquisa do *T. gondii* em amostras teciduais (testículos e epidídimos) dos gatos

Decorridos 70 dias pós-inoculação, todos os felinos (GI, GII e GIII) foram orquiectomizados para colheita dos testículos e epidídimos.

As amostras teciduais (testículos e epidídimos), assim obtidas, foram divididas cada uma, em três alíquotas, sendo uma utilizada na pesquisa de *T. gondii*

por meio da bioprova em camundongos, a segunda armazenada sob temperatura de -20°C e utilizada na pesquisa do parasito por meio da nested PCR (SILVA et al., 2009), e a terceira foi fixada em formol tamponado 10%, sendo utilizada nas análises histopatológicas e imunohistoquímicas.

4.19.1. Orquiectomia dos felinos

Este procedimento cirúrgico foi realizado de acordo com a técnica descrita por Lui et al. (2011), sendo todo paramento pessoal, e os instrumentos cirúrgicos utilizados, previamente esterilizados. No momento pré-cirúrgico, realizou-se a pesagem de cada felino para a administração de acepromazina 0,1 mg/kg/IM e cloridrato de tramadol 2 mg/kg/IM. A anestesia geral foi realizada com cloridrato de tiletamina e zolazepan na dosagem de 7 mg/kg/IM.

Quando estes animais entraram em plano anestésico, foi colocada uma gota de pomada oftálmica nos olhos de cada felino, evitando assim a desidratação do globo ocular, o que poderia resultar em lesão do mesmo. A seguir, procedeu-se a tricotomia do púbis, períneo e bolsa escrotal, seguida de antissepsia local com clorexidina de uso tópico (1%) e álcool.

Os felinos foram posicionados em decúbito dorsal em uma calha cirúrgica, com os membros torácicos e pélvicos devidamente contidos. Panos de campo esterilizados foram afixados, e a incisão realizada com auxílio de bisturi, na extremidade da bolsa escrotal, permitindo a exteriorização de cada testículo. Imediatamente, incidiu-se a túnica vaginal, desprendendo sua inserção na cauda do epidídimo, e com auxílio de pinças hemostáticas realizou-se a ligadura do ducto deferente com fio absorvível 2-0 (categute cromado). O mesmo procedimento foi realizado no outro testículo (Figura 3). Na dermorrafia da ferida cirúrgica, foram feitos três pontos com fio de nylon.

Todo o procedimento cirúrgico foi monitorado, aferindo-se temperatura, movimentos respiratórios e batimentos cardíacos. Ao final da cirurgia os felinos receberam penicilina benzatina 40.000UI/kg/IM, sendo realizada a administração oral de dipirona sódica 25 mg/kg, a cada 12 horas, durante cinco dias, além de assepsia diária com clorexidina a 1% na ferida cirúrgica.

A retirada dos pontos cirúrgicos foi realizada após total cicatrização da ferida cirúrgica (sete dias após a cirurgia).



Figura 3. Orquiectomia realizada nos reprodutores felinos.

4.19.2. Bioprova em camundongos (testículos e epidídimos)

Fragmentos de testículos e epidídimos extraídos dos três grupos experimentais de felinos foram digeridos em pepsina (DUBEY, 1998a) e inoculados (1 mL) em grupos de cinco camundongos. Estes animais foram observados quanto à presença da infecção toxoplásmica, de acordo com a metodologia descrita por Costa et al. (1977), avaliando a ocorrência de sinais clínicos da toxoplasmose durante seis semanas. Neste período, os camundongos que apresentaram pelos arrepiados foram eutanasiados e realizada a pesquisa de taquizoítos no exsudato peritoneal. Nos sobreviventes após 42 dias, foi pesquisada (RIFI) a presença de anticorpos (IgG anti-*T. gondii*) (CAMARGO, 1964) e cistos cerebrais do parasito.

4.19.3. Nested PCR (testículos e epidídimos)

A pesquisa de DNA do parasito nas amostras de testículos e epidídimos colhidas dos felinos pertencentes aos grupos I, II e III, foi realizada por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (nested PCR).

Das amostras teciduais (testículos e epidídimos) previamente armazenadas á -20°C, foi extraído o DNA genômico, utilizando-se o kit Illustra TM tissue e cells genomic Prep Mini Spin kit (GE Healthcare, EUA), conforme instruções do fabricante.

4.19.4. Exames histopatológicos e imunohistoquímicos (testículos e epidídimos)

Exames histopatológicos e imunohistoquímicos foram realizados nos fragmentos de testículos e epidídimos colhidos dos gatos por meio da orquiectomia, com o objetivo de identificar formas císticas de *T. gondii* nestes tecidos.

Para as análises histopatológicas, os testículos e epidídimos, fixados em formalina 10%, foram clivados e os fragmentos desidratados, diafanizados, impregnados e incluídos em parafina histológica. Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo a 5µ de espessura, os cortes histológicos corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) e montados em lâminas.

Nas análises Imunohistoquímicas, as amostras de testículos e epidídimos, após o processamento histológico para obtenção de blocos de parafina, foram submetidas a cortes histológicos de 3µm de espessura, sendo estendidas em lâminas silanizadas (MARCA EASY-PATH) que posteriormente foram incubadas em estufa a 55°C por seis horas. A desparafinização destes cortes foi realizada em xilol, seguida de banhos em álcoois gradualmente hidratados (álcool absoluto, álcool a 95%, álcool a 80%) e água destilada.

Foi utilizado um anticorpo policlonal contra *T. gondii* produzido em coelhos (MINEO, 2002 – comunicação pessoal), na diluição de 1:5000 em solução de soroalbumina bovina (BSA) a 1% em PBS e 0,1% de azida sódica.

Após, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena dos cortes histológicos, por meio de duas lavagens em peróxido de hidrogênio a 6%, seguidas de lavagens em água destilada e solução tampão (PBS – pH 7,2). Em seguida, o anticorpo diluído foi colocado sobre os cortes, sendo estes primeiramente incubados em câmara úmida a 37°C por 30 minutos, e posteriormente, a 4°C por 18 horas.

Após este procedimento, foram realizadas três lavagens em PBS, de cinco minutos cada, seguidas de nova incubação com anticorpo biotinilado (solução de anticorpos biotinilados contra imunoglobulinas de coelho/camundongo/cabra), em câmara úmida a 37°C por 30 minutos. Em seguida, foram realizadas três lavagens em PBS (cinco minutos cada), sendo adicionada as lâminas, estrepto-avidina-biotina-peroxidase, sendo realizada nova incubação em câmara úmida a 37°C por 30 min.

Após esta incubação, três banhos de 30 minutos cada em PBS foram realizados, sendo a revelação feita por meio de lavagem em solução peróxido de hidrogênio a 0,1% e cromógeno (diaminobenzidina 60 mg%, Sigma D5637, USA) diluídos em PBS.

Por fim, as lâminas assim preparadas foram lavadas novamente em água destilada e submetidas a contracoloração com hematoxilina de Harris, sendo o material desidratado em álcoois, diafanizado em xilol e montado entre lâmina e lamínula por meio de resina sintética (Entellan, Merck, Germany).

4.20. Análise estatística

Os parâmetros pré e pós-inoculação foram avaliados por meio de um delineamento em parcela subdividida no tempo, considerando-se os dados obtidos nos felinos inoculados (GI e GII) e controle (GIII). As comparações entre as médias (parâmetros clínicos, hematológicos e títulos sorológicos) obtidas nos grupos experimentais felinos (GI, GII e GIII) foram aplicados por meio do teste Kruskal-Wallis (95% de confiança). As comparações entre os surtos parasitêmicos obtidos nos diferentes grupos experimentais, foram realizadas por meio do teste exato de Fisher (95% de confiança). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa computacional SAS (2001).

5. RESULTADOS

5.1. Seleção dos felinos experimentais

Das 39 amostras sorológicas colhidas na triagem dos felinos, e avaliadas por meio da RIFI, 56,41% (22/39) apresentaram-se positivas quanto a presença de anticorpos (IgG) contra-*T. gondii*.

Os 17 animais negativos (RIFI<16 em triplicata), foram submetidos a colheita de sêmen por eletroejaculação, verificando-se, o comportamento destes ao procedimento. Quatro deles não responderam positivamente, não ejaculando após o termino dos ciclos de estimulação elétrica propostos, foram excluídos da seleção.

Dos 13 felinos restantes, foi excluído um animal por meio de sorteio.

5.2. Obtenção dos taquizoítos (cepa “RH”) de *T. gondii* e padronização dos inóculos

Dos dez camundongos albinos suíços (*Mus musculus*) utilizados na replicação dos taquizoítos de *T. gondii*, apenas quatro foram aproveitados, por apresentarem em seus lavados peritoneais, uma solução contendo taquizoítos, isenta de hemácias e/ou células inflamatórias.

Destes roedores foram extraídos 7,8 mL (taquizoítos/exsudato peritoneal/solução fisiológica) contendo 1.177.500 taquizoítos por mL. Destes, foram inoculados (via subcutânea) 169,85 µL (adicionados à 500 µL de solução fisiológica), em cada felino do grupo II, totalizando 200.000 taquizoítos por inóculo.

5.3. Obtenção dos cistos (cepa “P”) de *T. gondii* e padronização dos inóculos

Seis camundongos portadores da toxoplasmose crônica foram eutanasiados. Dos encéfalos destes animais (“pool”) foram isolados 3420 cistos em uma solução

de 9mL, sendo inoculados por felino, 1,57 mL, contendo aproximadamente 600 cistos de *T. gondii*.

5.4. Observações clínicas dos felinos

Durante o período experimental, todos felinos (grupo I, II e III), foram observados clinicamente em busca de qualquer alteração sugestiva ou não de toxoplasmose, o que se encontra registrado na Tabela 3.

Todos os felinos inoculados com taquizoítos (cepa “RH”) de *T. gondii* (grupo II), apresentaram apatia e hiporexia, em algum momento pós-inoculação. Diferentemente, apenas um felino (P2) inoculado com cistos teciduais (cepa “P”) do parasito (grupo I) apresentou apatia após a infecção (Tabela 3).

Pelos arrepiados foi o segundo sinal clínico mais observado nos gatos pertencentes ao grupo II (felinos RH1, RH2 e RH3), seguido de diarreia (felino RH4) e secreção nasal e ocular (felino RH2).

Dois felinos (P2 e P4) inoculados com cistos teciduais (grupo I), também apresentaram diarreia após a inoculação. Neste grupo, ainda foi observada a ocorrência de secreção ocular, diagnosticada em um felino (P1) do 11º ao 14º DPI.

Tabela 3. Observações clínicas diárias dos felinos pertencentes aos grupos I, II e III. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Sinais Clínicos/ Período (dias) pós-inoculação								
		Apatia	Hiporexia	Diarréia	Pelos Arrepiados	Secreção Nasal	Secreção Ocular	Obstrução Uretral	Sintomatologia nervosa	Abcesso local da inoculação
P1	I (Infectado "P")	-	-	-	-	-	(11-14)	-	-	-
P2		(9-14)	-	(8)	-	-	-	-	-	-
P3		-	-	-	-	-	-	-	-	-
P4		-	-	(7-8)	-	-	-	-	-	-
RH1	II (Infectado "RH")	(4-13) (49-60)	(6-9) (49-60)	-	(44-55)	-	-	(49-50)	(51-63)	-
RH2		(5-44)	(4-31)	-	(14-25)	(16)	(15-17)	-	-	-
RH3		(6-12)	(9-10)	-	(7-17)	-	-	-	-	(6-10)
RH4		(7-11)	(8-11) (22-23)	(21-23)	-	-	-	-	-	-
C1	III (Controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2		-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3		-	-	-	-	-	-	-	-	-
C4		-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): Nada digno de nota.

No 6º DPI, o felino RH3 desenvolveu um abscesso no local onde foi injetado o inóculo (Figura 4), sendo o mesmo drenado naturalmente no 10º DPI.



Figura 4. Abscesso formado no local da inoculação de *T. gondii* do felino RH3.

No 49º DPI, o felino RH1 apresentou disúria, permanecendo muito tempo na posição de micção (tenesmo), porém, sem conseguir urinar (Figura 5). Este movimento era repetido várias vezes por minuto, sendo necessário o encaminhamento do animal ao Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" (HV) da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, SP. No exame clínico realizado, observou-se apatia, e um grande dilatamento vesical, provocado por obstrução uretral decorrente de uma cistite intersticial felina obstrutiva. Uréia e creatinina foram mensuradas (125,0 e 2,5 mg/dL respectivamente).

Para desobstrução da uretra, o felino foi anestesiado com cloridrato de tiletamina (125,0mg) e zolazepam (125,0 mg), na dose de 5 mg/Kg/IM, para fixação de uma sonda uretral nº 4. A seguir, realizou-se lavagem vesical com cloreto de

sódio, e fluidoterapia intravenosa (cloreto de sódio 0,9% + 0,24 mL de cloridrato de ranitidina). Cloridrato de tramadol, 0,2 mL via SC, também foi administrado durante o procedimento de desobstrução.

No 51º DPI, já anorético, o felino começou a apresentar sintomatologia sugestiva de lesão nervosa, andando em círculos, escondendo em cantos de parede e apresentando crises convulsivas. Encaminhado novamente ao HV da FCAV/Unesp, foram realizados testes neurológicos constatando lesão cerebelar.

Testes bioquímicos (ureia e creatinina) foram novamente realizados, não identificando alterações (ureia 53,0 mg/dL e creatinina 1,40mg/dL). Pelo histórico de recente inoculação com *T. gondii*, a toxoplasmose passou a ser a suspeita clínica principal, sendo realizada uma nova titulação no 52º DPI comprovando aumento na título (IgG anti-*T. gondii*) de 256 para 1024.

Após a confirmação do quadro, decidiu-se por motivos de bem estar animal, excluir o felino do presente estudo, realizando o tratamento da toxoplasmose com sulfametoxazol 200mg/5mL + trimetropina 40mg/5mL, administrados via oral, a cada 12 horas, durante 10 dias, juntamente com alimentação líquida, fornecida por meio de uma sonda nasogástrica afixada (Figura 6).

A alimentação líquida foi administrada com auxílio de uma seringa de 50 mL acoplada a sonda nasogástrica, iniciando com duas refeições menores no primeiro dia (30 mL), aumentando para quatro refeições no segundo dia (65 mL) e seis refeições no terceiro dia (130 mL). A partir do quarto dia foram mantidas seis refeições diárias (200 mL) até a retirada da sonda (61º DPI).

A recuperação clínica do felino ocorreu após o 63º DPI, não sendo mais observada qualquer sintomatologia anteriormente descrita.

Outra observação clínica relevante foi realizada no 49º DPI nos felinos C1 e C2, quando foi diagnosticada infestação por *Ctenocephalides felis felis*. Após a constatação da presença destes ectoparasitos foi imediatamente realizada a retirada total destes ectoparasitos com auxílio de pinça e pente fino, além do controle ambiental destes parasitos e mudança de ambiente dos animais.



Figura 5. Felino RH1 com tenesmo vesical no 49º DPI.



Figura 6. Sonda nasogástrica afixada no felino RH1 (51º DPI).

5.5. Pesquisa de *T. gondii* nas amostras fecais felinas

Nas Tabelas 4 e 5 estão expressos os dados referentes a consistência e peso de fezes excretada respectivamente pelos quatro felinos pertencentes ao grupo I (inoculados com cistos teciduais de *T. gondii*) entre o 1º e 17º DPI.

Nas Tabelas 6 e 7 estão sintetizadas, respectivamente, as quantificações de oocistos de *T. gondii* eliminados pelos felinos (GI) em dois gramas de fezes, e na excreta total.

Todos os reprodutores felinos inoculados com cistos cerebrais de *T. gondii* eliminaram oocistos em algum momento experimental, sendo observado um período pré-patente de 5 a 13 dias pós-inoculação (Tabelas 6 e 7).

A presença de oocistos de *T. gondii* nas fezes dos gatos inoculados com a cepa “P” do parasito em diferentes datas experimentais, pode ser comprovada por meio de avaliações morfológicas e inoculações em camundongos (Tabela 8 e Figura 7).

Um total aproximadamente de 2406210 oocistos, foram isolados de todos os gatos durante o período de eliminação, sendo o maior pico de excreção de oocistos observado no felino P3, que apresentou 1455770 oocistos eliminados durante o estudo (Tabela 7).

Os camundongos inoculados intraperitonealmente com amostras fecais felinas contendo oocistos apresentaram-se positivos após seis semanas da inoculação, fato comprovado por meio da soroconversão dos mesmos (RIFI - título>32) e/ou observações de cistos cerebrais (Tabela 8 e Figura 7).

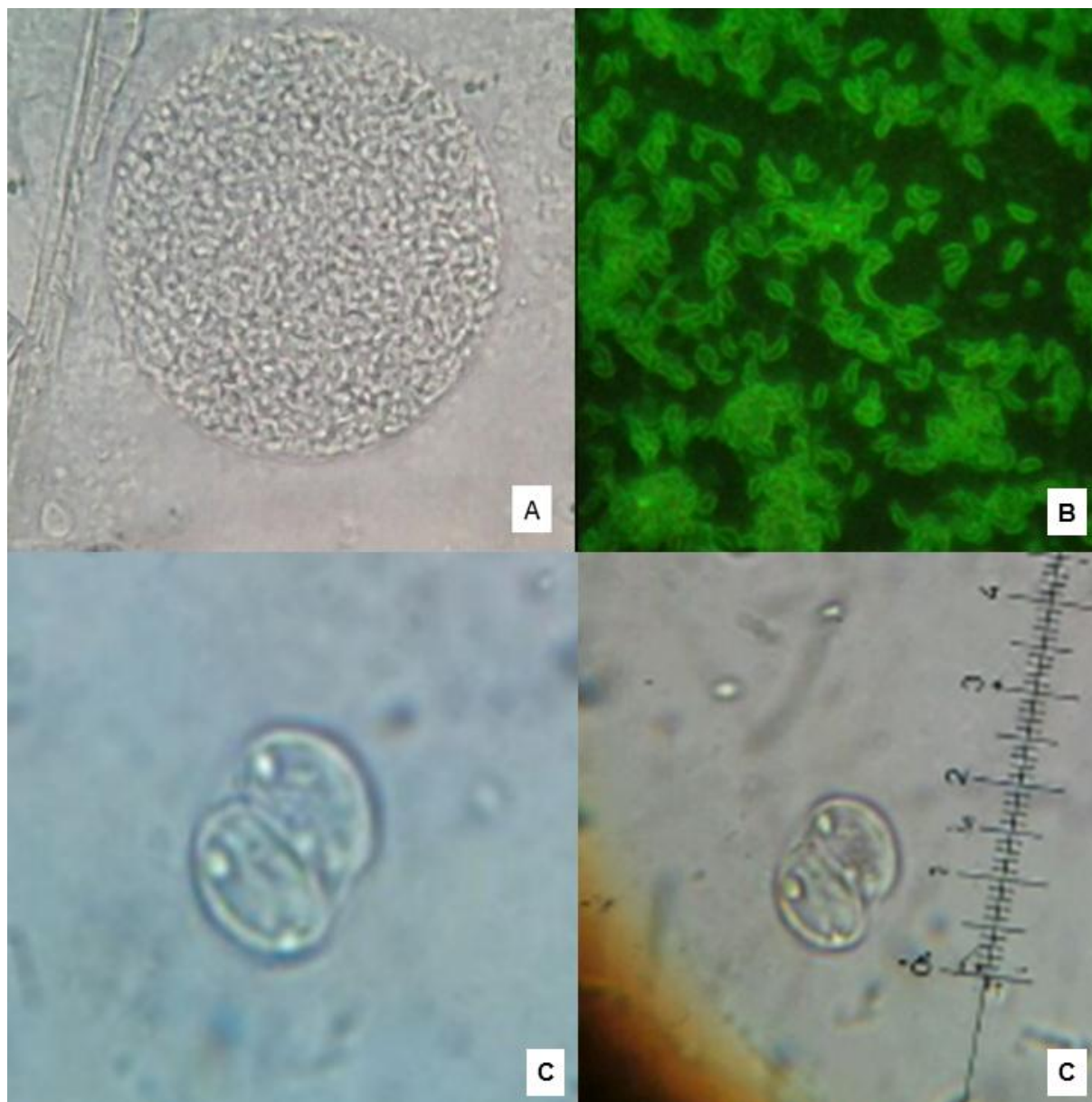


Figura 7. Bioprova positiva. A: Cisto de *T. gondii* em cérebro de camundongo inoculado com fezes dos felinos GI. B: RIFI positiva título >32 (soro camundongo inoculado com oocistos). C: Oocistos esporulados de *T. gondii* excretados pelos felídeos (microscopia de luz).

Tabela 4. Consistência das fezes excretadas pelos felinos pertencentes ao grupo I, do 1º ao 17º dia pós-inoculação de cistos de *Toxoplasma gondii* (cepa “P”). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Consistência das fezes / Dias pós-inoculação																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
P1	Pastosa	Firme	Firme	Firme	Firme	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Firme	Firme	Firme	Firme	Firme	Firme
P2	Pastosa	Pastosa	Firme	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Líquida	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa
P3	Firme	Firme	Pastosa	Pastosa	Firme	Firme	Firme	Pastosa	Pastosa	Firme	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa
P4	Firme	Firme	Firme	Firme	Firme	Firme	Líquida	Líquida	Pastosa	Pastosa	Firme	Firme	Firme	Firme	Firme	Firme	Pastosa

Tabela 5. Peso (g) total das fezes excretadas pelos felinos pertencentes ao grupo I, do 1º ao 17º dia pós-inoculação de cistos de *Toxoplasma gondii* (cepa “P”). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Quantidades excretadas de fezes (g) / Datas experimentais																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
P1	32,0	48,0	46,4	35,0	44,2	76,0	43,0	71,0	47,0	35,5	33,1	40,0	33,0	32,9	33,3	45,7	44,9
P2	55,8	43,5	76,3	45,0	67,2	44,3	34,2	ND	85,0	93,7	59,2	76,0	80,3	72,0	84,1	68,7	69,0
P3	58,7	44,6	67,0	89,2	72,0	67,0	88,3	71,0	69,0	65,0	38,2	78,0	82,0	58,6	65,0	59,1	78,0
P4	40,0	43,0	55,0	54,0	35,9	42,8	ND	ND	43,6	43,0	40,2	44,6	20,0	28,4	42,0	31,0	50,1
Média	34,8	30,3	53,1	42,7	54,8	42,3	40,8	43,3	51,1	59,3	38,8	79,3	57,3	48,0	63,6	47,8	94,5
Total	186,5	179,1	244,7	223,2	219,3	230,1	165,5	142,0	244,6	237,2	170,7	238,6	215,3	191,9	224,4	204,5	242,0

ND: Não determinado (amostra de fezes não colhida).

Tabela 6. Número de oocistos eliminados em dois gramas de fezes pelos gatos experimentalmente infectados com cistos da cepa “P” de *Toxoplasma gondii*. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Número de oocistos* / Datas experimentais																	Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
P1	0	0	0	0	0	0	7000	2000	2000	1000	1000	1000	1000	0	0	0	0	15000
P2	0	0	0	0	0	0	1000	ND	2000	3500	2000	0	0	0	0	0	0	8500
P3	0	0	0	0	0	1000	2000	3500	29000	4000	2000	0	1000	0	0	0	0	42500
P4	0	0	0	0	1000	6000	ND	ND	4000	1500	1000	0	0	0	0	0	0	13500
Média	0	0	0	0	250,0	1750,0	3333,3	2750,0	9250,0	2500,0	1500,0	250,0	500,0	0	0	0	0	19875
Total	0	0	0	0	1000,0	7000,0	10000,0	5500,0	37000,0	10000,0	6000,0	1000,0	2000,0	0	0	0	0	79500,0

* Número de oocistos de *T. gondii* quantificados em dois gramas de fezes.

ND: Não determinado.

Tabela 7. Número aproximado de oocistos eliminados por cada felino experimentalmente infectado com cistos da cepa “P” de *Toxoplasma gondii*, nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Número de oocistos* / Datas experimentais																	Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
P1	0	0	0	0	0	0	150500	71000	47000	17750	16525	20000	16500	0	0	0	0	339275
P2	0	0	0	0	0	0	17105	ND	85000	163940	59220	0	0	0	0	0	0	325265
P3	0	0	0	0	0	33500	88300	124250	1000500	130000	38220	0	41000	0	0	0	0	1455770
P4	0	0	0	0	17950	128400	ND	ND	87200	32250	20100	0	0	0	0	0	0	285900
Média	0	0	0	0	4487,5	40475,0	85301,7	97625,0	304925,0	85985,0	33516,3	5000,0	14375,0	0	0	0	0	601552,5
Total	0	0	0	0	17950,0	161900,0	255905,0	195250,0	1219700,0	343940,0	134065,0	20000,0	57500,0	0	0	0	0	2406210

* Número de oocistos de *T. gondii* excretados pelos felinos em 24 horas.

ND: Não determinado (amostra de fezes não colhida).

Tabela 8. Pesquisa de oocistos (*Toxoplasma gondii*) nas fezes dos felinos inoculados com cistos (cepa “P”) do parasito (grupo I), por meio da bioprova em camundongos e microscopia de luz. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Pesquisa de oocistos (<i>Toxoplasma gondii</i>) em fezes felinas																																				
	Bioprova em camundongos (RIFI*/Detecção de cistos cerebrais**)																	Exame coproparasitológico***																			
	Datas experimentais¹																	Datas experimentais¹																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
P1	-	-	-	-	-	-	-	AB	A	AB	A	A	A	AB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P	P	P	P	-	-	-	-	
P2	-	-	-	-	-	-	-	AB	ND	AB	AB	AB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	ND	P	P	P	-	-	-	-	-	-	-	
P3	-	-	-	-	-	-	AB	AB	A	AB	AB	AB	A	AB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	P	P	P	P	P	-	P	-	-	-	-	-	
P4	-	-	-	-	-	A	A	ND	ND	AB	A	AB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	ND	ND	P	P	P	-	-	-	-	-	-

*Titulação de anticorpos contra *T. gondii* (IgG>32-RIFI).

** Cistos cerebrais contendo bradizoítos de *T. gondii*.

*** Pesquisa de oocistos esporulados de *T. gondii* por meio de microscopia óptica.

A – Resultado positivo RIFI.

AB – Resultado positivo RIFI e detecção de cistos cerebrais.

(-): Resultados negativos.

P: Positivo para presença de oocistos.

N: Negativo para presença de oocistos.

ND: Não determinado (amostra de fezes não colhida).

5.6. Exames clínicos dos felinos

Nas Tabelas 9, 10, 11 estão registrados respectivamente, todos os dados clínicos (frequência respiratória, frequência cardíaca, e temperatura corporal) aferidos dos felinos experimentais, seguido da análise estatística referente a cada um destes parâmetros (Tabela 12).

As frequências respiratórias médias obtidas nos felinos variaram de 35 a 48 movimentos por minuto nos animais do grupo controle (GIII), de 39 a 45 nos animais inoculados com cistos (GI), e 38 a 53 movimentos nos inoculados com taquizoítos (GII) (Tabela 9). Diferença estatística ($p \leq 0,05$) foi detectada entre os valores médios de frequência respiratória mensurados apenas no 21º DPI, onde este parâmetro clínico aferido nos felinos controles (GIII), foi significativamente inferior aos aferidos nos felinos GI e GII (Tabela 12).

As frequências cardíacas médias variaram de 139 a 184 bpm nos animais pertencentes ao grupo controle, de 194 a 212 nos inoculados com a cepa “P”, e 133 a 168 nos inoculados com a cepa “RH” do parasito (Tabela 10). As médias de batimentos cardíacos por minuto, aferidas nos felinos inoculados com cistos teciduais de *T. gondii* (GI) foram estatisticamente ($p \leq 0,05$) superiores às obtidas nos felinos infectados com taquizoítos (GII) (Tabela 12).

A temperatura retal média dos felinos pertencentes ao grupo controle (GIII) variou de 38,3 a 38,8°C durante todo período experimental. Já nos grupos de felinos inoculados com cistos teciduais (GI) e taquizoítos (GII), estas médias variaram respectivamente de 38,0 a 38,5°C, e 38,0 a 38,8°C (Tabela 11), não sendo diagnosticada em nenhuma data experimental, diferença estatística ($p > 0,05$) entre as temperaturas médias obtidas nos felinos dos três grupos (Tabela 12).

Independente da análise estatística, quando analisados os dados de temperatura retal obtidos de cada animal, constatou-se hipertermia nos felinos RH4 (dia 0 e 7º DPI), C1 (dia 0 e 14º DPI) e C2 (7º e 28º DPI), de acordo com os parâmetros de normalidade adotados por Feitosa, (2008). Diminuição na temperatura corpórea (hipotermia) também foi observada nos felinos RH1 (42º DPI) e RH2 (21º e 28º DPI). É relevante informar que em algumas datas experimentais, a

temperatura retal de alguns animais foi aferida após a anestesia, devido ao stress apresentado pelos felinos no momento da contenção (Tabela 11).

Tabela 9. Frequência respiratória aferida nas diferentes datas experimentais dos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Frequência respiratória (mpm) / Datas experimentais								
		-7	0	7	14	21	28	42	56	70
P1	Grupo I (infectado "P")	52*	36	44*	60*	40	52*	40	44*	48*
P2		48*	44*	44*	36	44*	36	32	40	40
P3		48*	48*	40	36	40	44*	56*	32	40
P4		32	36	36	36	44*	40	40	40	44*
Média		45,0*	41,0*	41,0*	42,0*	42,0*	43,0*	42,0*	39,0	43,0*
RH1	Grupo II (infectado "RH")	40	36	40	60*	44*	48*	28	ND	ND
RH2		48*	44*	52*	32	52*	36	52*	20	56*
RH3		44*	44*	48*	40	44*	44*	36	56*	48*
RH4		40	36	32	52*	72*	40	36	52*	52*
Média		43,0*	40,0	43,0*	46,0*	53,0*	42,0*	38,0	42,7*	52,0*
C1	Grupo III (controle)	44*	48*	36	36	24	40	56*	56*	44*
C2		40	44*	60*	48*	36	56*	52*	36	40
C3		40	44*	48*	52*	36	48*	44*	44*	44*
C4		36	44*	48*	36	44*	44*	40	36	36
Média		40,0	45,0*	48,0*	43,0*	35,0	47,0*	48,0*	43,0*	41,0*

*: Parâmetro aumentado (FEITOSA, 2008).

ND: Não determinado (felino excluído).

Tabela 10. Frequência cardíaca aferida nas diferentes datas experimentais dos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Frequência cardíaca (bpm) / Datas experimentais								
		-7	0	7	14	21	28	42	56	70
P1	Grupo I (infectado "P")	192	204	200	196	220	192	200	220	188
P2		208	188	216	192	192	212	224	216	200
P3		200	200	188	204	208	208	220	184	212
P4		188	184	196	216	212	220	204	224	204
Média		197,0	194,0	200,0	202,0	208,0	208,0	212,0	211,0	201,0
RH1	Grupo II (infectado "RH")	124	128	160	124	140	128	128	ND	ND
RH2		144	156	168	144	124	156	172	180	152
RH3		148	124	144	148	160	144	180	168	156
RH4		132	124	132	124	180	124	136	156	184
Média		137,0	133,0	151,0	135,0	151,0	138,0	154,0	168,0	164,0
C1	Grupo III (controle)	148	124	164	128	144	152	180	148	ND
C2		128	128	196	128	124	196	160	140	128
C3		136	140	200	180	196	200	200	180	196
C4		180	164	176	204	200	168	184	228	200
Média		148,0	139,0	184,0	160,0	166,0	179,0	181,0	174,0	174,7

ND: Não determinado (felino excluído)

Tabela 11. Temperatura retal aferida nas diferentes datas experimentais dos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Temperatura retal (°C) / Datas experimentais								
		-7	0	7	14	21	28	42	56	70
P1	Grupo I (infectado "P")	38,0	38,0	38,3	38,5	38,2	38,4	38,0	38,3	37,9
P2		38,1	37,9	38,2	38,1	38,4	38,0	38,1	38,3	38,4
P3		37,9	37,9	38,0	39,0	38,1	38,0	38,3	38,0	38,2
P4		38,3	38,3	38,6	38,5	38,5	38,4	38,5	38,4	38,3
	Média	38,1	38,0	38,3	38,5	38,3	38,2	38,2	38,3	38,2
RH1	Grupo II (infectado "RH")	38,5	38,0 ^a	37,9	38,7	38,4	38,0	37,4 ^{**a}	ND	ND
RH2		38,7	38,7	38,8	38,6	37,3 ^{**a}	37,7 ^{**a}	38,1	38,7	38,9
RH3		38,6	37,9	38,7	38,1	38,1	38,4	38,1	38,2	38,1 ^a
RH4		39,0	40,6 [*]	39,5 [*]	38,4	38,8	38,7	38,5	38,8	38,9
	Média	38,7	38,8	38,7	38,5	38,2	38,2	38,0	38,6	38,6
C1	Grupo III (controle)	38,9	40,0 [*]	39,2	39,3 [*]	39,2	38,8	38,4	38,4 ^a	ND
C2		39,1	39,0	39,3 [*]	39,1	39,1	39,3 [*]	38,7	38,8	38,8
C3		38,0	38,0	38,1	38,0	38,0	38,2	38,1	38,1	38,0
C4		38,1	38,1	38,0	38,1	38,2	38,2	38,1	38,3	38,2
	Média	38,5	38,8	38,7	38,6	38,6	38,6	38,3	38,4	38,3

a: Temperatura retal aferida após anestesia

*: Parâmetro aumentado (FEITOSA, 2008).

** : Parâmetro diminuído (FEITOSA, 2008).

ND: Não determinado (felino excluído).

Tabela 12. Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros clínicos (frequência respiratória, frequência cardíaca, e temperatura retal), mensurados nas diferentes datas experimentais, nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Parâmetro	Datas	Grupos Experimentais / Médias e Desvios Padrões ¹											
		Grupo I (infectado "P")			Grupo II (infectado "RH")			Grupo III (controle)					
Clínico	Experimentais												
Frequência respiratória (mpm)	-7	45,0	±	8,9	Aa	43,0	±	3,8	Aa	40,0	±	3,3	Aa
	0	41,0	±	6,0	Aa	40,0	±	4,6	Aa	45,0	±	2,0	Aa
	7	41,0	±	3,8	Aa	43,0	±	8,9	Aa	48,0	±	9,8	Aa
	14	42,0	±	12,0	Aa	46,0	±	12,4	Aa	43,0	±	8,2	Aa
	21	42,0	±	2,3	Aa	53,0	±	13,2	Aa	35,0	±	8,2	Ba
	28	43,0	±	6,8	Aa	42,0	±	5,2	Aa	47,0	±	6,8	Aa
	42	42,0	±	10,1	Aa	38,0	±	10,1	Aa	48,0	±	7,3	Aa
	56	39,0	±	5,0	Aa	42,7	±	19,7	Aa	43,0	±	9,5	Aa
	70	43,0	±	3,8	Aa	52,0	±	4,0	Aa	41,0	±	3,8	Aa
Frequência cardíaca (bpm)	-7	197,0	±	8,9	Aa	137,0	±	11,0	Ba	148,0	±	22,9	ABa
	0	194,0	±	9,5	Aa	133,0	±	15,4	Ba	139,0	±	18,0	ABa
	7	200,0	±	11,8	Aa	151,0	±	16,1	Ba	184,0	±	17,0	ABa
	14	202,0	±	10,6	Aa	135,0	±	12,8	Ba	160,0	±	38,2	ABa
	21	208,0	±	11,8	Aa	151,0	±	24,3	Ba	166,0	±	37,9	ABa
	28	208,0	±	11,8	Aa	138,0	±	14,8	Ba	179,0	±	22,9	ABa
	42	212,0	±	11,8	Aa	154,0	±	25,8	Ba	181,0	±	16,5	ABa
	56	211,0	±	18,3	Aa	168,0	±	12,0	Aa	174,0	±	39,9	Aa
	70	201,0	±	10,0	Aa	164,0	±	17,4	Aa	174,7	±	40,5	Aa
Temperatura retal (°C)	-7	38,1	±	0,2	Aa	38,7	±	0,2	Aa	38,5	±	0,6	Aa
	0	38,0	±	0,2	Aa	38,8	±	1,3	Aa	38,8	±	0,9	Aa
	7	38,3	±	0,3	Aa	38,7	±	0,7	Aa	38,7	±	0,7	Aa
	14	38,5	±	0,4	Aa	38,5	±	0,3	Aa	38,6	±	0,7	Aa
	21	38,3	±	0,2	Aa	38,2	±	0,6	Aa	38,6	±	0,6	Aa
	28	38,2	±	0,2	Aa	38,2	±	0,4	Aa	38,6	±	0,5	Aa
	42	38,2	±	0,2	Aa	38,0	±	0,5	Aa	38,3	±	0,3	Aa
	56	38,3	±	0,2	Aa	38,6	±	0,3	Aa	38,4	±	0,3	Aa
	70	38,2	±	0,2	Aa	38,6	±	0,5	Aa	38,3	±	0,4	Aa

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($p \geq 0,05$).

5.7. Exames hematológicos dos felinos experimentais

Nas Tabelas 13 e 14 estão inseridos respectivamente, os parâmetros eritrocitários e as comparações múltiplas destes valores obtidos nas avaliações hematológicas dos felinos pertencentes aos grupos experimentais I, II e III.

As contagens médias de hemácias dos felinos variaram de 7,41 a 8,8 ($\times 10^6/\mu\text{L}$) nos animais não infectados (GIII), de 7,1 a 10,4 ($\times 10^6/\mu\text{L}$) nos inoculados com cistos teciduais (cepa “P”), e de 8,1 a 10,5 ($\times 10^6/\mu\text{L}$) nos inoculados com taquizoítos (cepa “RH”) de *T. gondii* (Tabela 13). Nenhum felino apresentou diminuição no número de hemácias (anemia), durante o período experimental (THRALL, 2007), sendo pelo contrário, diagnosticada o aumento na concentração destas células nos felinos RH1 (7°, 28° e 42° DPI) e RH2 (7° e 14° DPI).

Diferença significativa ($p \leq 0,05$) foi diagnosticada sete dias antes da inoculação, onde os felinos do GI apresentaram contagens de hemácias respectivamente superiores às obtidas nos animais pertencentes aos grupos III e II (Tabela 14). Em contrapartida, no 14° DPI o GII apresentou contagens de eritrócitos estatisticamente superiores ($p \leq 0,05$) ao grupo GI.

Os valores médios da concentração de hemoglobina obtidos dos gatos não infectados (controle) variaram entre 11,4 a 12,5 (g/dl) durante todo o período experimental. Nenhum felino controle ou inoculado com cistos teciduais de *T. gondii* apresentou alteração nos níveis de hemoglobina (THRALL, 2007), diferentemente dos felinos RH1 (7°, 28° e 42° DPI), RH2 (7° DPI) e RH3 (42° DPI), inoculados com a cepa “RH” de *T. gondii* (Tabela 13).

Em relação ao hematócrito (%), o grupo controle (GIII) obteve valores médios que variaram de 33,8% a 42,0 %. Este parâmetro eritrocitário oscilou (média) de 31,0% a 43,9% nos felinos inoculados com cistos teciduais (cepa “P”), e de 36,2% a 48,9% nos inoculados com taquizoítos (cepa “RH”). Nenhum felino (GI, GII e GIII) apresentou diminuição no hematócrito durante o estudo, entretanto, o aumento neste parâmetro eritrocitário foi diagnosticado em todos felinos inoculados com a cepa “RH” em diferentes datas experimentais, como descrito na Tabela 13.

No 7° e 14° DPI os felinos pertencentes ao grupo II apresentaram valores de hematócrito superiores ($p < 0,05$) aos obtidos pelos felinos do grupo I (Tabela 14).

Tabela 13. Parâmetros eritrocitários obtidos nas diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Dia do Estudo	Felinos Experimentais	Grupo	Eritrograma		
			Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)
			Ref. (5,0-11,0)	Ref. (8,0-15,0)	Ref. (25-45)
-7	P1	Grupo I (Infectado "P")	9,55	14,55	42,5
	P2		10,26	15	45
	P3		10,97	14,3	44,2
	P4		11	14,7	44
		Média	10,45	14,64	43,93
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	8,3	13,00	38
	RH2		8,1	15,00	42
	RH3		8,4	14,30	44
	RH4		8,1	13,10	45
		Média	8,23	13,85	42,25
	C1	Grupo III (Controle)	8,6	13,2	41
	C2		7,5	11	43
	C3		9	12,3	40
	C4		10,10	13,10	42,00
		Média	8,80	12,40	41,50
0	P1	Grupo I (Infectado "P")	7,2	11	32
	P2		7,3	10,9	32
	P3		8,4	12,4	37
	P4		9,4	13,9	42
		Média	8,08	12,05	35,75
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	8,1	11,9	36
	RH2		8,3	12	36
	RH3		8	11,8	36
	RH4		8,4	12,6	37
		Média	8,20	12,08	36,25
	C1	Grupo III (Controle)	8,7	12,5	37
	C2		7,1	10,3	31
	C3		6,5	10,6	34
	C4		7,5	12,2	35
		Média	7,45	11,40	34,25
7	P1	Grupo I (Infectado "P")	7	10	30
	P2		7,8	11,4	34
	P3		8,8	12,9	39
	P4		8,8	12,6	38
		Média	8,10	11,73	35,25
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	12,68*	17*	56,9*
	RH2		11,13*	15,4*	51,1*
	RH3		10,08	14,5	46,5*
	RH4		8,22	12,7	41,3
		Média	10,53	14,90	48,95
	C1	Grupo III (Controle)	8,07	11,9	40,2
	C2		9,14	12,6	42,3
	C3		7,2	12,5	38
	C4		8	11,8	38
		Média	8,10	12,20	39,63

Ref. Valores de referências.

*parâmetro aumentado (THRALL, 2007).

ND: Não determinado (felino excluído).

Continua na próxima página.

Tabela 13. Parâmetros eritrocitários obtidos nas diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP (continuação).

Dia do Estudo	Felinos Experimentais	Grupo	Eritrograma		
			Hemácias (x10 ⁶ /μL)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)
			Ref. (5,0-11,0)	Ref. (8,0-15,0)	Ref. (25-45)
14	P1	Grupo I (Infectado "P")	6,7	9,5	28
	P2		6,4	10,5	31
	P3		8,4	12,4	37
	P4		7,2	10,3	30
	Média		7,18	10,68	31,50
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	8,81	10,8	37,7
	RH2		11,53*	13,6	52*
	RH3		9,91	12,6	45,4*
	RH4		10,8	14,8	54,5*
	Média		10,26	12,95	47,40
	C1	Grupo III (Controle)	6,99	9,7	34
	C2		9,44	12	43,3
	C3		7	11,4	36
	C4		7,8	12,7	39
	Média		7,81	11,45	38,08
21	P1	Grupo I (Infectado "P")	6,7	9	28
	P2		6,3	11	30
	P3		8,6	12	39
	P4		8	11	28
	Média		7,40	10,75	31,25
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	7,45	9,8	32,2
	RH2		10,46	14,4	47,9*
	RH3		9,64	13,8	44,9
	RH4		9,21	14,5	46,4*
	Média		9,19	13,13	42,85
	C1	Grupo III (Controle)	8,86	13,6	43,9
	C2		8,39	12	38,8
	C3		7,3	12,3	35
	C4		8	11,6	39
	Média		8,14	12,38	39,18
28	P1	Grupo I (Infectado "P")	6,5	9,1	27
	P2		6,9	9,6	28
	P3		9,2	12,6	38
	P4		7,6	10,3	31
	Média		7,55	10,40	31,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	11,4*	16,4*	53,9*
	RH2		10,44	14,5	48*
	RH3		7,49	10,6	34,2
	RH4		7,29	11,4	36,1
	Média		9,16	13,23	43,05
	C1	Grupo III (Controle)	7,28	11,5	36
	C2		8,31	12,1	39,2
	C3		7,8	12,3	33
	C4		8,2	12,4	36
	Média		7,90	12,08	36,05

Ref. Valores de referências.

*parâmetro aumentado (THRALL, 2007).

Continua na próxima página.

Tabela 13. Parâmetros eritrocitários obtidos nas diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP (continuação).

Dia do Estudo	Felinos Experimentais	Grupo	Eritrograma		
			Hemácias (x10 ⁶ /μL)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)
			Ref. (5,0-11,0)	Ref. (8,0-15,0)	Ref. (25-45)
42	P1	Grupo I (Infectado "P")	6,9	9,7	32
	P2		7,5	10,2	31
	P3		9,7	13,5	40
	P4		7,9	10,9	33
	Média		8,00	11,08	34,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	11,01*	15,4*	47,8*
	RH2		9,38	13,8	41,9
	RH3		10,02	15,4*	45,7*
	RH4		7,41	12,5	36,4
	Média		9,46	14,28	42,95
	C1	Grupo III (Controle)	8,96	14,5	43,4
	C2		7,62	11,8	34,8
	C3		6,9	12,1	37
	C4		7,5	11,6	34
	Média		7,75	12,50	37,30
56	P1	Grupo I (Infectado "P")	7,2	10,1	30
	P2		6	8,8	26
	P3		7,8	11,5	34
	P4		8	12,4	38
	Média		7,25	10,70	32,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	ND	ND	ND
	RH2		9,67	14,2	42,5
	RH3		5,92	9	25,9
	RH4		8,85	14,6	43,9
	Média		8,15	12,60	37,43
	C1	Grupo III (Controle)	8,08	13	38,8
	C2		8,3	12,4	37,5
	C3		7,4	11,9	32
	C4		6,9	11,5	37
	Média		7,67	12,20	36,33
70	P1	Grupo I (Infectado "P")	7,5	10,9	33
	P2		6,3	9,4	28
	P3		8,2	12,1	36
	P4		8,3	12,4	37
	Média		7,58	11,20	33,50
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	ND	ND	ND
	RH2		8,42	12,5	37,3
	RH3		7,29	11,1	33,3
	RH4		8,74	14,5	43,4
	Média		8,15	12,70	38,00
	C1	Grupo III (Controle)	6,77	10,8	32,3
	C2		7,95	11,8	35,4
	C3		7,3	11,7	33
	C4		7,6	12,1	39
	Média		7,41	11,60	34,93

Ref. Valores de referências.

*parâmetro aumentado (THRALL, 2007).

ND: Não determinado (felino excluído).

Tabela 14. Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros eritrocitários obtidos nas diferentes datas experimentais, nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Parâmetro	Datas	Grupos Experimentais / Médias e Desvios Padrões ¹						
Hematológico	Experimentais	Grupo I (infectado "P")		Grupo II (infectado "RH")		Grupo III (controle)		Valores de Referências
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	-7	10,5 ± 0,7	Aa	8,2 ± 0,2	Ba	8,8 ± 1,1	Aba	5,0-11,0 (x10 ⁶ /μL)
	0	8,1 ± 1,0	Aa	8,2 ± 0,2	Aa	7,5 ± 0,9	Aa	
	7	8,1 ± 0,9	Aa	10,5 ± 1,9	Aa	8,1 ± 0,8	Aa	
	14	7,2 ± 0,9	Ba	10,3 ± 1,2	Aa	7,8 ± 1,2	ABa	
	21	7,4 ± 1,1	Aa	9,2 ± 1,3	Aa	8,1 ± 0,7	Aa	
	28	7,6 ± 1,2	Aa	9,2 ± 2,1	Aa	7,9 ± 0,5	Aa	
	42	8,0 ± 1,2	Aa	9,5 ± 1,5	Aa	7,7 ± 0,9	Aa	
	56	7,3 ± 0,9	Aa	8,1 ± 2,0	Aa	7,7 ± 0,6	Aa	
	70	7,6 ± 0,9	Aa	8,2 ± 0,8	Aa	7,4 ± 0,5	Aa	
Hemoglobina (g/dL)	-7	14,6 ± 0,3	Aa	13,9 ± 1,0	AB ab	12,4 ± 1,0	Ba	5,0-11,0 (g/dL)
	0	12,1 ± 1,4	Aa	12,1 ± 0,4	Aa	11,4 ± 1,1	Aa	
	7	11,7 ± 1,3	Aa	14,9 ± 1,8	Aa	12,2 ± 0,4	Aa	
	14	10,7 ± 1,2	Aa	13,0 ± 1,7	Aa	11,5 ± 1,3	Aa	
	21	10,8 ± 1,3	Aa	13,1 ± 2,2	Aa	12,4 ± 0,9	Aa	
	28	10,4 ± 1,5	Aa	13,2 ± 2,7	Aa	12,1 ± 0,4	Aa	
	42	11,1 ± 1,7	Ba	14,3 ± 1,4	Aa	12,5 ± 1,3	ABa	
	56	10,7 ± 1,6	Aa	12,6 ± 3,1	Aa	12,2 ± 0,6	Aa	
	70	11,2 ± 1,4	Aa	12,7 ± 1,7	Aa	11,6 ± 0,6	Aa	
Hematócrito (%)	-7	43,9 ± 1,0	Aa	42,3 ± 3,1	Aa	41,5 ± 1,3	Aa	25-45 (%)
	0	35,8 ± 4,8	Aa	36,3 ± 0,5	Aa	34,3 ± 2,5	Aa	
	7	35,3 ± 4,1	Ba	49,0 ± 6,6	Aa	39,6 ± 2,1	ABa	
	14	31,5 ± 3,9	Ba	47,4 ± 7,5	Aa	38,1 ± 4,0	ABa	
	21	31,3 ± 5,3	Aa	42,9 ± 7,2	Aa	39,2 ± 3,6	Aa	
	28	31,0 ± 5,0	Aa	43,1 ± 9,5	Aa	36,1 ± 2,5	Aa	
	42	34,0 ± 4,1	Aa	43,0 ± 5,0	Aa	37,3 ± 4,3	Aa	
	56	32,0 ± 5,2	Aa	37,4 ± 10,0	Aa	36,3 ± 3,0	Aa	
	70	33,5 ± 4,0	Aa	38,0 ± 5,1	Aa	34,9 ± 3,0	Aa	

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($p \geq 0,05$).

Na Tabela 15 estão registrados os parâmetros leucocitários (contagem global de leucócitos, eosinófilos, monócitos, linfócitos, neutrófilos segmentados e bastonetes) obtidos dos felinos infectados (GI e GII) e não infectados (GIII) com *T. gondii*.

Os valores médios obtidos na contagem de leucócitos nos felinos não infectados (GIII) variaram de 8475,00 a 11400,00 células/ μL . As contagens médias de leucócitos nos gatos infectados com *T. gondii*, variaram de 8925,00 a 12025,00 células/ μL nos animais inoculados com cistos (GI), e de 11550,00 a 17450 células/ μL nos inoculados com taquizoítos (GII). Quando analisado individualmente (por animal), foi diagnosticada leucocitose (THRALL, 2007) nos felinos P1 (42° e 56° DPI), P2 (7° e 56° DPI), P3 (14°, 28°, 42° e 56° DPI), P4 (7°, 14°, 21° DPI), RH2 (7°, 42° e 56° DPI), RH3 (-7, 0, 7°, 14°, 21°, 28°, 42°, 56° e 70° DPI), RH4 (-7, 0 e 7° DPI) e C1 (21° DPI) (Tabela 15).

Na análise diferencial dos leucócitos, a neutrofilia foi diagnosticada nos felinos RH2 (7° DPI), RH3 (-7, 0, 7°, 14°, 21°, 28°, 42°, 56° e 70° DPI), e RH4 (7° DPI), todos inoculados com taquizoítos (cepa “RH”) de *T. gondii* (Tabela 15).

Monocitose foi observada nos felinos P3 (70° DPI), RH2 (7°, 21° e 56° DPI) e RH4 (70° DPI).

Outra alteração leucocitária diagnosticada nos felinos foi a eosinofilia, por sua vez, foi evidenciada nos reprodutores P2 (21°, 56° e 70° DPI), P3 (42° DPI), e C2 (56° DPI).

Os felinos RH3, RH2 e P4, ambos inoculados com *T. gondii*, apresentaram diminuição no número de linfócitos circulantes (linfopenia), respectivamente no 7°, 21° e 70° DPI.

Valores fisiológicos para contagens de plaquetas inclui o intervalo de 150 a 700 mil/ mm^3 (THRALL, 2007). Baseando-se neste parâmetro, o felino RH1 apresentou trombocitose (aumento na concentração de plaquetas) no 7°, 14° e 28° DPI (Tabela 15).

Durante todo estudo, não foi diagnosticada diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) entre as contagens de leucócitos totais, basófilos, neutrófilos segmentados, eosinófilos, monócitos e plaquetas obtidas nos diferentes grupos felinos (GI, GII e GIII) como descrito na Tabela 16.

Entretanto, as contagens de bastonetes (μL) obtidas no grupo felino inoculado com cistos teciduais (GI) foram estatisticamente ($p \leq 0,05$) superiores às contagens obtidas nos grupos III e II respectivamente, do 7º ao 42º DPI.

No 28º e 70º DPI, as contagens de linfócitos obtidas nos felinos inoculados com cistos de *T. gondii* (GI), foram estatisticamente inferiores ($p \leq 0,05$) às mensuradas nos inoculados com taquizoítos do parasito (GII). No 70º DPI, as contagens de linfócitos do grupo I, ainda foi estatisticamente inferior ($p \leq 0,05$) à obtida pelos animais pertencentes ao grupo III (controle) (Tabela 16).

Tabela 15. Parâmetros leucocitários e plaquetários obtidos em diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Dia do Estudo	Felinos Experimentais	Grupo	Leucograma							Plaquetograma	
			Leucócitos (µL)	Basófilos (µL)	Bastonetes (µL)	Segmentados (µL)	Eosinófilos (µL)	Linfócitos (µL)	Monócitos (µL)	Número de plaquetas (mm³)	
-7	P1	Grupo I (Infectado "P")	10200	0	102	6120	306	3468	204	360000	
	P2		10430	0	104,3	6153,7	104,3	3859,1	208,6	320000	
	P3		10660	0	0	6609,2	106,6	3837,6	106,6	280000	
	P4		10890	0	108,9	6207,3	217,8	4247,1	108,9	240000	
		Média	10545,00	0,00	78,80	6272,55	183,68	3852,95	157,03	300000,00	
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	7100	0	0	3763	142	2911	284	393000	
	RH2		11300	0	226	7119	226	3503	226	319000	
	RH3		19000*	0	0	12730*	190	5510	570	324000	
	RH4		19200*	0	192	14400*	192	4032	384	375000	
		Média	14150,00*	0,00	104,50	9503,00	187,50	3989,00	366,00	352750,00	
	C1	Grupo III (Controle)	10000	0	0	5500	400	3700	400	312000	
	C2		11500	0	0	5980	1150	3795	575	336000	
	C3		5200	0	52	2704	104	2132	208	432000	
	C4		7200,0	0	0	3960	216	2664	360	423000	
		Média	8475,00	0,00	13,00	4536,00	467,50	3072,75	385,75	375750,00	
0	P1	Grupo I (Infectado "P")	7500	0	75	4125	450	2700	150	484000	
	P2		11500	0	230	7820	345	2645	460	416000	
	P3		11400	0	114	5472	684	4788	342	430000	
	P4		7400	0	74	4662	370	1998	296	399000	
		Média	9450,00	0,00	123,25	5519,75	462,25	3032,75	312,00	432250,00	
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	7700	0	0	4004	385	2926	308	393000	
	RH2		10100	0	101	6161	404	3131	303	319000	
	RH3		18400*	0	184	13248*	184	4048	736	324000	
	RH4		19100*	0	191	13370*	382	4393	764	375000	
		Média	13825,00*	0,00	119,00	9195,75	338,75	3624,50	527,75	352750,00	
	C1	Grupo III (Controle)	11400	0	0	6270	456	4218	456	356000	
	C2		10100	0	0	5252	1010	3333	505	336000	
	C3		10500	0	0	5670	315	4305	210	487000	
	C4		8800	0	88	4576	352	3520	264	365000	
		Média	10200,00	0,00	22,00	5442,00	533,25	3844,00	358,75	386000,00	
7	P1	Grupo I (Infectado "P")	9000	0	90	5670	630	2160	450	501000	
	P2		13900*	0	139	9035	1390	2780	556	455000	
	P3		11900	0	119	6664	357	4165	595	399000	
	P4		12600*	0	126	6930	1134	3780	630	402000	
		Média	11850,00	0,00	118,50	7074,75	877,75	3221,25	557,75	439250,00	
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	5000	0	0	2850	200	1550	400	819000*	
	RH2		20800*	0	0	16640*	208	2912	1040*	419000	
	RH3		24200*	0	0	21296*	968	1452**	484	534000	
	RH4		15300*	0	0	11934	459	2448	459	232000	
		Média	16325,00*	0,00	0,00	13180,00	458,75	2090,50	595,75	501000,00	
	C1	Grupo III (Controle)	10700	0	0	6848	856	2568	428	514000	
	C2		11600	0	0	8468	1276	1624	232	405000	
	C3		9600	0	0	5376	768	3168	288	463000	
	C4		7400	0	74	4070	518	2442	296	334000	
		Média	9825,00	0,00	18,50	6190,50	854,50	2450,50	311,00	429000,00	
Valores de referência (THRALL. 2007)			5.500-12.500	0-100	0-300	2500-12.500	0-1.500	1.500-7.000	0-800	150.000-700.000	

*Parâmetro aumentado.

**Parâmetro diminuído.

Continua na próxima página.

Tabela 15. Parâmetros leucocitários e plaquetários obtidos em diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP (continuação).

Dia do Estudo	Felinos Experimentais	Grupo	Leucograma						Plaquetograma	
			Leucócitos (µL)	Basófilos (µL)	Bastonetes (µL)	Segmentados (µL)	Eosinófilos (µL)	Linfócitos (µL)	Monócitos (µL)	Número de plaquetas (mm ³)
14	P1	Grupo I (Infectado "P")	11400	0	114	7980	456	2280	570	464000
	P2		9100	0	91	5369	1092	2002	546	480000
	P3		13000*	0	260	8450	1170	2600	520	475000
	P4		12800*	0	256	9344	256	2560	384	369000
		Média	11575,00	0,00	180,25	7785,75	743,50	2360,50	505,00	447000,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	4800	0	0	2160	240	2016	384	729000*
	RH2		12300	0	0	7503	246	3936	615	475000
	RH3		20400*	0	0	15504*	204	4080	612	565000
	RH4		8700	0	0	3654	522	4089	435	351000
		Média	11550,00	0,00	0,00	7205,25	303,00	3530,25	511,50	530000,00
	C1	Grupo III (Controle)	11100	0	0	7548	111	3108	333	424000
	C2		12200	0	0	6710	1098	3904	488	404000
	C3		8700	0	87	5133	957	2175	348	489000
	C4		10200	0	0	5814	1020	3060	306	375000
		Média	10550,00	0,00	21,75	6301,25	796,50	3061,75	368,75	423000,00
21	P1	Grupo I (Infectado "P")	12100	0	242	7744	363	3267	484	463000
	P2		10800	0	108	6372	1512*	2484	324	471000
	P3		12100	0	121	7260	1210	2904	605	462000
	P4		13100*	0	131	8908	393	3144	524	355000
		Média	12025,00	0,00	150,50	7571,00	869,50	2949,75	484,25	437750,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	5000	0	0	2050	350	2050	550	558000
	RH2		8300	0	0	5146	0	1494**	1660*	384000
	RH3		24000*	0	0	19200*	480	3840	480	353000
	RH4		9600	0	0	5952	960	2496	192	266000
		Média	11725,00	0,00	0,00	8087,00	447,50	2470,00	720,50	390250,00
	C1	Grupo III (Controle)	13400*	0	0	9112	402	3350	536	476000
	C2		12200	0	0	6588	1220	3904	488	366000
	C3		9800	0	0	5880	784	2842	294	499000
	C4		10200	0	0	5916	918	2958	408	386000
		Média	11400,00	0,00	0,00	6874,00	831,00	3263,50	431,50	431750,00
28	P1	Grupo I (Infectado "P")	8100	0	81	4860	729	2025	405	448000
	P2		10800	0	108	6480	1296	2592	324	432000
	P3		15900*	0	159	11130	954	3180	477	482000
	P4		6100	0	0	2684	427	2684	305	405000
		Média	10225,00	0,00	87,00	6288,50	851,50	2620,25	377,75	441750,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	7000	0	0	3220	420	3080	280	767000*
	RH2		12200	0	0	6710	122	4880	488	366000
	RH3		21300*	0	0	13206*	426	7455	213	364000
	RH4		10800	0	0	5184	216	4860	540	183000
		Média	12825,00*	0,00	0,00	7080,00	296,00	5068,75	380,25	420000,00
	C1	Grupo III (Controle)	9300	0	0	5952	372	2976	0	413000
	C2		11200	0	0	8064	672	2128	336	304000
	C3		11200	0	0	7056	672	3136	336	501000
	C4		9700	0	0	5626	776	3104	194	402000
		Média	10350,00	0,00	0,00	6674,50	623,00	2836,00	216,50	405000,00
Valores de referência (THRALL. 2007)			5.500-12.500	0-100	0-300	2500-12.500	0-1.500	1.500-7.000	0-800	150.000-700.000

*Parâmetro aumentado.

**Parâmetro diminuído.

Continua na próxima página.

Tabela 15. Parâmetros leucocitários e plaquetários obtidos em diferentes datas experimentais nos felinos infectados com *Toxoplasma gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP (continuação).

Dia do Estudo	Felinos Experimentais	Grupo	Leucograma							Plaquetograma
			Leucócitos (µL)	Basófilos (µL)	Bastonetes (µL)	Segmentados (µL)	Eosinófilos (µL)	Linfócitos (µL)	Monócitos (µL)	Número de plaquetas (mm ³)
42	P1	Grupo I (Infectado "P")	12700*	0	127	7747	1016	3175	635	430000
	P2		9400	0	94	4700	1316	2820	470	456000
	P3		16400*	0	164	9840	1968*	3608	820*	418000
	P4		9100	0	91	5096	1001	2457	455	388000
		Média	11900,00	0,00	119,00	6845,75	1325,25	3015,00	595,00	423000,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	8800	0	0	6512	88	1760	440	317000
	RH2		13400*	0	0	8576	134	4154	536	474000
	RH3		39000*	0	0	33150*	390	5070	390	253000
	RH4		8600	0	0	5074	860	2322	344	220000
		Média	17450,00*	0,00	0,00	13328,00*	368,00	3326,50	427,50	316000,00
	C1	Grupo III (Controle)	12000	0	0	6720	480	4560	240	504000
	C2		7700	0	0	3542	770	3234	154	562000
	C3		10400	0	0	6136	1040	3120	104	420000
	C4		7700	0	77	4697	539	2156	231	456000
		Média	9450,00	0,00	19,25	5273,75	707,25	3267,50	182,25	485500,00
56	P1	Grupo I (Infectado "P")	12700*	0	0	7366	762	4064	508	318000
	P2		12900*	0	0	8256	1548*	2580	516	335000
	P3		13900*	0	139	9591	973	2780	417	298000
	P4		8500	0	85	5355	850	1870	340	370000
		Média	12000,00	0,00	56,00	7642,00	1033,25	2823,50	445,25	330250,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	RH2		15200*	0	0	9120	304	4560	1216*	251000
	RH3		21400*	0	0	13482*	1284	6206	428	353000
	RH4		12300	0	0	6273	369	5289	369	171000
		Média	16300,00*	0,00	0,00	9625,00	652,33	5351,67	671,00	258330,00
	C1	Grupo III (Controle)	9800	0	0	3332	1372	4704	392	538000
	C2		10700	0	0	5778	1712*	2568	642	222000
	C3		9400	0	0	5358	752	3102	188	394000
	C4		8100	0	81	4779	729	2268	243	396000
		Média	9500,00	0,00	20,25	4811,75	1141,25	3160,50	366,25	387500,00
70	P1	Grupo I (Infectado "P")	7300	0	0	4380	365	2263	292	265000
	P2		11100	0	111	6216	1887*	2442	444	265000
	P3		9300	0	93	6789	465	1581	372	215000
	P4		8000	0	80	5280	960	1280**	400	335000
		Média	8925,00	0,00	71,00	5666,25	919,25	1891,50	377,00	270000,00
	RH1	Grupo II (Infectado "RH")	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	RH2		10400	0	0	4784	208	4784	624	170000
	RH3		25900*	0	0	18907*	1295	5439	259	250000
	RH4		9100	0	0	3458	546	4186	910*	205000
		Média	15133,33*	0,00	0,00	9049,67	683,00	4803,00	597,67	208330,00
	C1	Grupo III (Controle)	9100	0	0	4914	364	3549	273	442000
	C2		8400	0	0	3864	672	3192	672	195000
	C3		8900	0	0	5251	712	2759	178	410000
	C4		9600	0	0	5568	864	2784	384	407000
		Média	9000,00	0,00	0,00	4899,25	653,00	3071,00	376,75	363500,00
Valores de referência (THRALL. 2007)			5.500-12.500	0-100	0-300	2500-12.500	0-1.500	.500-7.000	0-800	150.000-700.000

*Parâmetro aumentado.

**Parâmetro diminuído.

ND: Não determinado (felino excluído).

Tabela 16. Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros leucocitários e plaquetários dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Parâmetro	Datas	Grupos Experimentais / Médias e Desvios Padrões ¹							
		Grupo I (infectado "P")		Grupo II (infectado "RH")		Grupo III (controle)			
Hematológico	Experimentais								
Leucócitos (µL)	-7	10545,0 ±	296,9 Aa	14150,0 ±	5968,0 Aa	8475,0 ±	2818,2 Aa		
	0	9450,0 ±	2310,1 Aa	13825,0 ±	5777,8 Aa	10200,0 ±	1080,1 Aa		
	7	11850,0 ±	2072,8 Aa	16325,0 ±	8393,4 Aa	9825,0 ±	1811,8 Aa		
	14	11575,0 ±	1797,0 Aa	11550,0 ±	6647,6 Aa	10550,0 ±	1479,9 Aa		
	21	12025,0 ±	943,0 Aa	11725,0 ±	8409,3 Aa	11400,0 ±	1697,1 Aa		
	28	10225,0 ±	4245,3 Aa	12825,0 ±	6062,1 Aa	10350,0 ±	995,0 Aa		
	42	11900,0 ±	3414,7 Aa	17450,0 ±	14536,7 Aa	9450,0 ±	2123,7 Aa		
	56	12000,0 ±	2391,7 Aa	16300,0 ±	4648,7 Aa	9500,0 ±	1080,1 Aa		
	70	8925,0 ±	1670,1 Aa	15133,3 ±	9346,8 Aa	9000,0 ±	496,7 Aa		
Basófilos (µL)	-7	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	0	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	7	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	14	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	21	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	28	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	42	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	56	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
	70	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa	0,0 ±	0,0 Aa		
Bastonetes (µL)	-7	78,8 ±	52,6 Aa	104,5 ±	121,5 Aab	13,0 ±	26,0 Aa		
	0	123,3 ±	73,6 Aa	119,0 ±	89,2 Aa	22,0 ±	44,0 Aa		
	7	118,5 ±	20,7 Aa	0,0 ±	0,0 Bb	18,5 ±	37,0 Ba		
	14	180,3 ±	90,3 Aa	0,0 ±	0,0 Bb	21,8 ±	43,5 Ba		
	21	150,5 ±	61,7 Aa	0,0 ±	0,0 Bb	0,0 ±	0,0 Ba		
	28	87,0 ±	66,4 Aa	0,0 ±	0,0 Bb	0,0 ±	0,0 Ba		
	42	119,0 ±	34,1 Aa	0,0 ±	0,0 Bb	19,3 ±	38,5 Ba		
	56	56,0 ±	68,3 Aa	0,0 ±	0,0 Ab	20,3 ±	40,5 Aa		
	70	71,0 ±	49,0 Aa	0,0 ±	0,0 Bb	0,0 ±	0,0 Ba		
Segmentados (µL)	-7	6272,6 ±	227,3 Aa	9503,0 ±	4933,7 Aa	4536,0 ±	1494,7 Aa		
	0	5519,8 ±	1630,4 Aa	9195,8 ±	4830,8 Aa	5442,0 ±	712,7 Aa		
	7	7074,8 ±	1414,9 Aa	13180,0 ±	7876,2 Aa	6190,5 ±	1895,5 Aa		
	14	7785,8 ±	1707,6 Aa	7205,3 ±	5972,8 Aa	6301,3 ±	1052,6 Aa		
	21	7571,0 ±	1057,0 Aa	8087,0 ±	7597,2 Aa	6874,0 ±	1527,1 Aa		
	28	6288,5 ±	3582,8 Aa	7080,0 ±	4326,6 Aa	6674,5 ±	1110,2 Aa		
	42	6845,8 ±	2411,3 Aa	13328,0 ±	13292,6 Aa	5273,8 ±	1433,7 Aa		
	56	7642,0 ±	1777,8 Aa	9625,0 ±	3630,9 Aa	4811,8 ±	1068,1 Aa		
	70	5666,3 ±	1059,3 Aa	9049,7 ±	8562,4 Aa	4899,3 ±	740,0 Aa		

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

Continua na próxima página.

Tabela 16. Resultados das comparações múltiplas dos parâmetros leucocitários e plaquetários dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP (continuação).

Parâmetro	Datas	Grupos Experimentais / Médias e Desvios Padrões ¹							
		Grupo I (infectado "P")		Grupo II (infectado "RH")		Grupo III (controle)			
Hematológico	Experimentais								
Eosinófilos (µL)	-7	183,7 ±	97,2 Aa	187,5 ±	34,5 Aa	467,5 ±	471,1 Aa		
	0	462,3 ±	154,5 Aa	338,8 ±	103,6 Aa	533,3 ±	323,4 Aa		
	7	877,8 ±	469,3 Aa	458,8 ±	360,2 Aa	854,5 ±	315,4 Aa		
	14	743,5 ±	455,9 Aa	303,0 ±	147,2 Aa	796,5 ±	460,6 Aa		
	21	869,5 ±	580,9 Aa	447,5 ±	397,3 Aa	831,0 ±	339,2 Aa		
	28	851,5 ±	366,6 Aa	296,0 ±	151,6 Aa	623,0 ±	174,4 Aa		
	42	1325,3 ±	452,4 Aa	368,0 ±	353,9 Aa	707,3 ±	254,7 Aa		
	56	1033,3 ±	353,9 Aa	652,3 ±	548,0 Aa	1141,3 ±	483,2 Aa		
	70	919,3 ±	695,6 Aa	683,0 ±	556,3 Aa	653,0 ±	209,7 Aa		
Linfócitos (µL)	-7	3853,0 ±	318,2 Aa	3989,0 ±	1112,6 Aabc	3072,8 ±	809,8 Aa		
	0	3032,8 ±	1212,8 Aab	3624,5 ±	707,4 Aabc	3844,0 ±	489,4 Aa		
	7	3221,3 ±	917,2 Aab	2090,5 ±	707,7 Ac	2450,5 ±	635,6 Aa		
	14	2360,5 ±	278,2 Aab	3530,3 ±	1011,9 Aabc	3061,8 ±	706,6 Aa		
	21	2949,8 ±	345,2 Aab	2470,0 ±	1001,1 Abc	3263,5 ±	479,1 Aa		
	28	2620,3 ±	473,5 Bab	5068,8 ±	1800,8 Aa	2836,0 ±	477,0 Ba		
	42	3015,0 ±	492,2 Aab	3326,5 ±	1547,8 Aabc	3267,5 ±	988,1 Aa		
	56	2823,5 ±	914,5 Bab	5351,7 ±	824,8 Aa	3160,5 ±	1085,3 Ba		
	70	1891,5 ±	551,2 Cb	4803,0 ±	626,7 Aab	3071,0 ±	375,4 Ba		
Monócitos (µL)	-7	157,0 ±	56,9 Aa	366,0 ±	150,8 Aa	385,8 ±	150,9 Aa		
	0	312,0 ±	128,2 Aa	527,8 ±	256,9 Aa	358,8 ±	143,7 Aa		
	7	557,8 ±	77,9 Aa	595,8 ±	298,3 Aa	311,0 ±	83,0 Aa		
	14	505,0 ±	83,2 Aa	511,5 ±	119,6 Aa	368,8 ±	81,4 Aa		
	21	484,3 ±	118,1 Aa	720,5 ±	645,2 Aa	431,5 ±	105,8 Aa		
	28	377,8 ±	79,1 Aa	380,3 ±	158,3 Aa	216,5 ±	159,1 Aa		
	42	595,0 ±	170,7 Aa	427,5 ±	82,3 Aa	182,3 ±	64,9 Aa		
	56	445,3 ±	83,3 Aa	671,0 ±	472,9 Aa	366,3 ±	203,0 Aa		
	70	377,0 ±	63,9 Aa	597,7 ±	326,3 Aa	376,8 ±	214,1 Aa		
Número de plaquetas (mm ³)	-7	300000,0 ±	51639,8 Aa	352750,0 ±	36881,6 Aa	375750,0 ±	60665,1 Aa		
	0	432250,0 ±	36754,8 Aa	352750,0 ±	36881,6 Aa	386000,0 ±	68415,4 Aa		
	7	439250,0 ±	48541,2 Aa	501000,0 ±	245830,6 Aa	429000,0 ±	77420,9 Aa		
	14	447000,0 ±	52427,7 Aa	530000,0 ±	159051,4 Aa	423000,0 ±	48380,4 Aa		
	21	437750,0 ±	55313,5 Aa	390250,0 ±	122481,0 Aa	431750,0 ±	65566,1 Aa		
	28	441750,0 ±	32170,1 Aa	420000,0 ±	246732,0 Aa	405000,0 ±	80601,9 Aa		
	42	423000,0 ±	28213,5 Aa	316000,0 ±	112768,2 Aa	485500,0 ±	61522,4 Aa		
	56	330250,0 ±	30510,9 Aa	258333,3 ±	91221,3 Aa	387500,0 ±	129299,4 Aa		
	70	270000,0 ±	49328,8 Aa	208333,3 ±	40104,0 Aa	363500,0 ±	113444,6 Aa		

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis (p>0,05).

5.8. Resposta Imune Humoral

A resposta imune humoral dos felinos (GI, GII e GIII), seguida das comparações múltiplas entre os títulos sorológicos médios obtidos nos três grupos experimentais, estão respectivamente expressas nas Tabelas 17 e 18.

Todos os felinos pertencentes ao grupo I e II soroconverteram (títulos IgG anti-*T. gondii* ≥ 64) após a inoculação (Tabela 17).

No 7º DPI foi diagnosticada a soroconversão de três felinos (P4, RH2 e RH4) todos com título 64.

O título sorológico máximo (IgG) anti-*T. gondii*, foi diagnosticado no felino RH3 (título 1024), em cinco datas experimentais (D21, D 28, D 42, D 56 e D 70). Nos demais felinos pertencentes ao grupo I e II, a recíproca sorológica máxima diagnosticada foi de 256.

Nenhum animal pertencente ao grupo controle (GIII) apresentou anticorpos (IgG) contra *T. gondii* ao longo de todo experimento.

A titulação média obtida nos felinos inoculados com cistos teciduais (GI), foi estatisticamente inferior ($p \leq 0,05$) à observada no grupo inoculado com taquizoítos (GII) no 7º, 14º e 21º DPI, se equivalendo nas datas posteriores (28º, 42º, 56º e 70º DPI).

Tabela 17. Recíprocas sorológicas obtidas por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) realizada nas amostras sorológicas, colhidas dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII) e não infectados (GIII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Títulos obtidos pela RIFI / Datas experimentais								
		-7*	0*	7	14	21	28	42	56	70
P1	Grupo I (infectado "P")	-	-	.	.	.	64	64	256	64
P2		-	-	.	.	.	64	256	256	256
P3		-	-	.	64	64	256	64	64	64
P4		-	-	64	64	64	256	256	256	256
RH1	Grupo II (infectado "RH")	-	-	.	256	256	256	256	ND	ND
RH2		-	-	64	256	256	256	256	256	64
RH3		-	-	.	256	1024	1024	1024	1024	1024
RH4		-	-	64	256	256	256	256	256	64
C1	Grupo III (controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2		-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3		-	-	-	-	-	-	-	-	-
C4		-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: Pré-inoculação

ND: não determinado (felino excluído).

(-) : Sorologia negativa.

Tabela 18. Comparações múltiplas dos títulos sorológicos (IgG anti-*T. gondii*) obtidos dos felinos infectados com *T. gondii* (GI e GII), nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Datas Experimentais	Grupos Experimentais / Médias e Desvios Padrões ¹					
	Grupo I (infectado "P")			Grupo II (infectado "RH")		
7	16,0	±	32,0 B	32,0	±	37,0 A
14	32,0	±	37,0 B	256,0	±	0,0 A
21	32,0	±	37,0 B	448,0	±	384,0 A
28	160,0	±	110,9 A	448,0	±	384,0 A
42	160,0	±	110,9 A	448,0	±	384,0 A
56	208,0	±	96,0 A	512,0	±	443,4 A
70	160,0	±	110,9 A	384,0	±	554,3 A

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($p \geq 0,05$).

5.9. Determinação da Parasitemia

A parasitemia exercida pelo *T. gondii* pode ser detectada em todos os felinos pertencentes aos grupos I e II, variando do 7° ao 42° DPI como demonstrado na Tabela 19.

Nos gatos pertencentes ao grupo I foram diagnosticados durante todo período experimental, cinco pontos de parasitemia pelo *T. gondii*, diferentemente do grupo II, que neste mesmo período foram diagnosticados nove pontos (Tabela 19).

Na análise estatística realizada (Tabela 20), não foi constatada diferença estatística ($p>0,05$) entre os surtos parasitêmicos diagnosticados entre os dois grupos felinos, infectados com *T. gondii* (GI e GII).

Tabela 19. Determinação da parasitemia do *Toxoplasma gondii* nos reprodutores felinos (GI, GII e GIII) nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Parasitemia (bioprova) / Datas experimentais								
		-7*	0*	7	14	21	28	42	56	70
P1	Grupo I (Infectado "P")	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P2		-	-	-	+	-	+	-	-	-
P3		-	-	+	-	-	-	-	-	-
P4		-	-	-	+	-	-	-	-	-
RH1	Grupo II (Infectado "RH")	-	-	+	+	-	-	-	ND	ND
RH2		-	-	+	-	-	+	+	-	-
RH3		-	-	+	+	-	-	-	-	-
RH4		-	-	-	-	+	+	-	-	-
C1	Grupo III (Controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2		-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3		-	-	-	-	-	-	-	-	-
C4		-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: Pré-inoculação

(+): Positivo.

(-): Negativo.

ND: não determinado (felino excluído).

Tabela 20. Análise estatística entre os dados obtidos de parasitemia do *Toxoplasma gondii* nos reprodutores felinos GI e GII, nas diferentes datas experimentais. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Grupo	Nº de surtos Parasitêmicos / Datas experimentais								
	-7*	0*	7	14	21	28	42	56	70
Grupo I (Infectado "P")	0	0	1 ^A	2 ^A	1 ^A	1 ^A	0	0	0
Grupo II (Infectado "RH")	0	0	3 ^A	2 ^A	1 ^A	2 ^A	1 ^A	0	0

1: Valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Exato de Fisher ($p > 0,05$).

*: Pré-inoculação

5.10. Colheita de sêmen dos felinos

As colheitas de sêmen bem sucedidas, por meio de eletroejaculação, estão registradas na Tabela 21.

Os felinos PI (nos 42° e 56° DPI), RH2 (no 70° DPI), RH3 (no 56° DPI) e C2 (no 28° DPI), não ejacularam após os estímulos elétricos (2 a 3 v) realizados durante o procedimento de eletroejaculação (Tabela 21).

Tabela 21. Amostras de sêmen colhidas dos felinos experimentais (GI, GII e GIII) nas diferentes datas experimentais, por meio da eletroejaculação. CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Colheita de sêmen/ Datas experimentais								
		-7*	0*	7	14	21	28	42	56	70
P1	Grupo I (Infectado "P")	+	+	+	+	+	+	NR	NR	+
P2		+	+	+	+	+	+	+	+	+
P3		+	+	+	+	+	+	+	+	+
P4		+	+	+	+	+	+	+	+	+
RH1	Grupo II (Infectado "RH")	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND
RH2		+	+	+	+	+	+	+	+	NR
RH3		+	+	+	+	+	+	+	NR	+
RH4		+	+	+	+	+	+	+	+	+
C1	Grupo III (Controle)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C2		+	+	+	+	+	NR	+	+	+
C3		+	+	+	+	+	+	+	+	+
C4		+	+	+	+	+	+	+	+	+

*: Pré-inoculação

(+): Colheita de sêmen bem sucedida

NR: Colheita de sêmen não realizada (animal não ejaculou após os estímulos elétricos).

ND: não determinado (felino excluído)

5.11. Pesquisa do *T. gondii* no sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) dos felinos (bioprova)

Todos os camundongos inoculados com as amostras seminais e teciduais (testículos e epidídimos) colhidas dos felinos inoculados com *T. gondii* (GI, GII) e mantidos como controle (GIII), não manifestaram sintomatologia clínica da infecção toxoplásmica (bioprova negativa). Fato este, confirmado pela ausência de cistos cerebrais e de anticorpos (IgG) anti-*T. gondii* (RIFI ≥ 32) nestes roedores (Tabela 22).

Os resultados obtidos na pesquisa de *T. gondii* no sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) dos felinos, realizada por meio da bioprova em camundongos, encontram-se descritos na Tabela 22.

Tabela 22. Resultados obtidos na pesquisa do *Toxoplasma gondii* realizada por meio da bioprova em camundongos, em amostras de sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) colhidas dos reprodutores felinos (GI, GII e GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	Bioprova em Camundongos										
		Presença <i>T. gondii</i> sêmen / Datas experimentais									Presença <i>T. gondii</i>	
		-7*	0*	7	14	21	28	42	56	70	Testículos	Epidídimos
P1	Grupo I (Infectado "P")	-	-	-	-	-	-	NR	NR	-	-	-
P2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RH1	Grupo II (Infectado "RH")	-	-	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND
RH2		-	-	-	-	-	-	-	-	NR	-	-
RH3		-	-	-	-	-	-	-	NR	-	-	-
RH4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C1	Grupo III (Controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2		-	-	-	-	-	NR	-	-	-	-	-
C3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: Pré-inoculação

(-): resultados negativos (ausência de cistos teciduais e RIFI negativa - título ≥ 32)

NR: Colheita de sêmen não realizada (animal não ejaculou após os estímulos elétricos).

ND: não determinado (felino excluído)

5.12. Pesquisa do *T. gondii* no sêmen e tecido (testículos e epidídimos) dos felinos pela nested PCR

Os resultados referentes a pesquisa no sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) do *T. gondii* nos felinos (GI, GII e GIII) por meio da nested PCR, estão expressos na Tabela 23.

Por meio desta técnica molecular, não foi possível identificar o DNA do *T. gondii* nas amostras seminais dos reprodutores felinos (GI, GII e GIII), nas diferentes datas pós-inoculação do parasito. A ausência de DNA do *T. gondii*, também foi evidenciada nas amostras de tecidos (testículos e epidídimos) colhidas dos felinos após orquiectomia dos animais pertencentes aos grupos GI, GII e GIII.

Os resultados da eletroforese em gel de agarose, na pesquisa de DNA do *T. gondii* (sêmen, testículos e epidídimos) realizada após prévia amplificação pela nested PCR, estão ilustrados na Figura 8.

Tabela 23. Resultados obtidos na pesquisa do *Toxoplasma gondii* realizada por meio da nested PCR, em amostras seminais e teciduais (testículos e epidídimos) colhidas dos reprodutores felinos (GI, GII e GIII). CPPAR/FCAV/UNESP-Jaboticabal, SP.

Felinos Experimentais	Grupo	nested PCR										Presença <i>T. gondii</i>	
		Presença <i>T. gondii</i> sêmen / Datas experimentais											
		-7	0	7	14	21	28	42	56	70	Testículos	Epidídimos	
P1	Grupo I (Infectado "P")	-	-	-	-	-	-	NR	NR	-	-	-	
P2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
RH1	Grupo II (Infectado "RH")	-	-	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	
RH2		-	-	-	-	-	-	-	-	NR	-	-	
RH3		-	-	-	-	-	-	-	-	NR	-	-	
RH4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C1	Grupo III (Controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C2		-	-	-	-	-	NR	-	-	-	-	-	
C3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

(-): nested PCR negativa

NR: Colheita de sêmen não realizada (animal não ejaculou após os estímulos elétricos).

ND: não determinado (felino excluído)

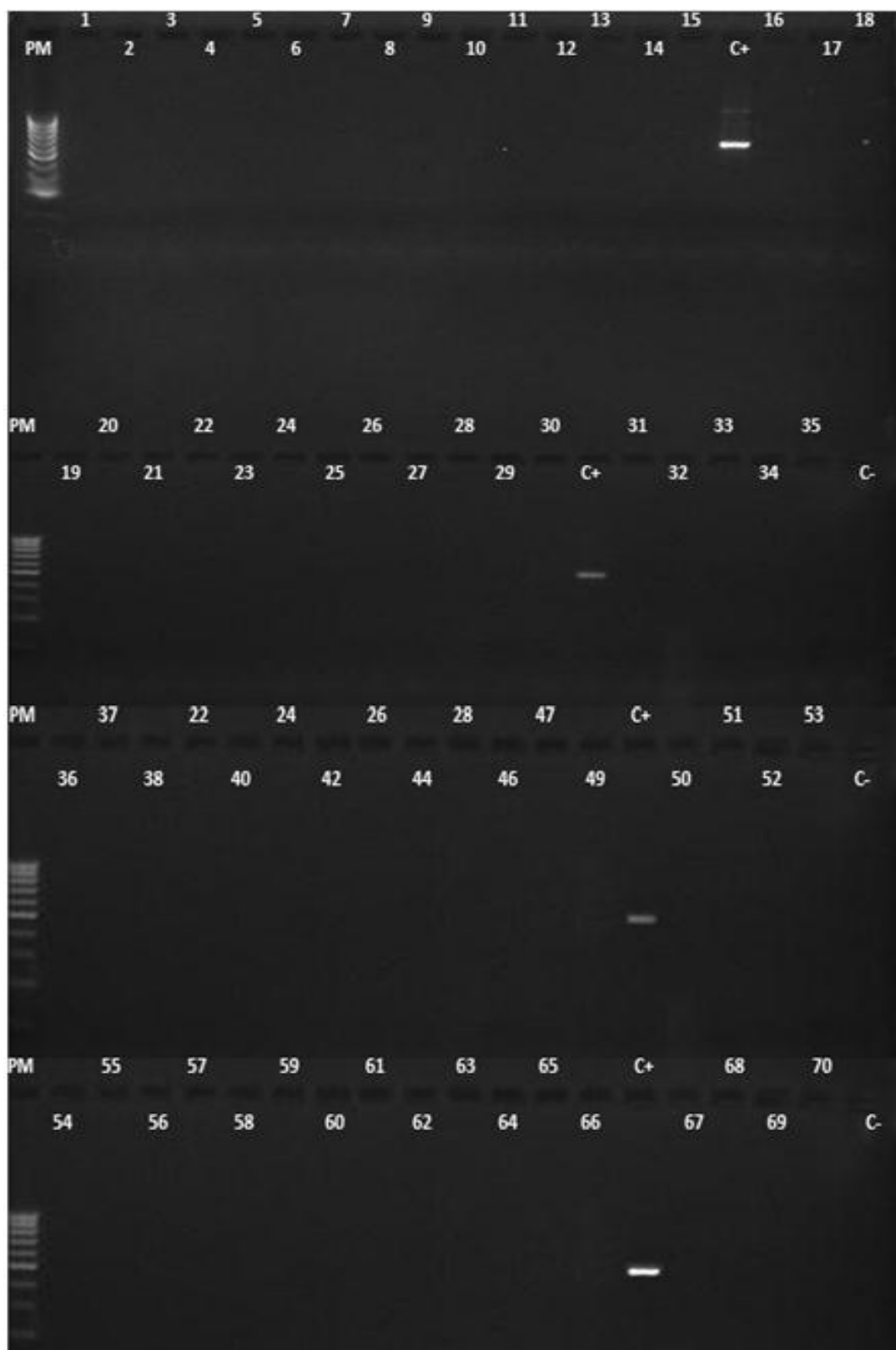


Figura 8. Eletroforese em gel de agarose contendo as amostras de DNA (previamente amplificadas pela nested PCR), extraídas do sêmen e tecidos (testículos e epidídimos) felinos. PM: Marcador de peso molecular. C+: Controle Positivo. C-: Controle negativo.

5.13. Pesquisa do *T. gondii* nos testículos e epidídimos felinos por meio de análises histopatológica e imunohistoquímica

Por meio de exames histopatológicos e imunohistoquímicos realizados nos testículos e epidídimos extraídos dos doze reprodutores felinos (GI, GII e GIII), não foi possível identificar o parasito, e tampouco, lesões decorrentes desta parasitose.

6. DISCUSSÃO

Para realização deste estudo foram selecionados felinos machos adultos, saudáveis, sorologicamente negativos para a infecção por *T. gondii*. Estes animais foram todos submetidos à prévias colheitas de sêmen por eletroejaculação, respondendo positivamente a este procedimento, com baixo nível de estresse, o que possibilitou colheitas de sêmen bem sucedidas, comprovadas por visualização dos espermatozoides por meio de microscopia de luz (aumento de 400 vezes).

A eletroejaculação é o método de eleição para obtenção de sêmen em felinos domésticos, realizada após prévia anestesia geral destes animais (VIEIRA et al., 2007).

A contenção química dos felinos para realização das colheitas de sêmen foi realizada de maneira segura, proporcionando de uma forma rápida, a entrada em plano anestésico, seguida de bom relaxamento muscular dos gatos. Esta associação farmacológica foi escolhida, principalmente, por sua alta segurança após administração, pela indução anestésica imediata, e por ocasionar um despertar dos animais de forma progressiva e calma.

Apesar da maioria das colheitas de sêmen terem sido bem sucedidas, cinco delas não foram realizadas (Tabela 21). Os felinos P1 (42° e 56° DPI), RH2 (70° DPI), RH3 (56° DPI) e C2 (28° DPI), não responderam aos impulsos elétricos realizados durante a colheita, não ejaculando. Silva et al. (2008) ao realizar colheitas seminais por eletroejaculação em 13 felinos domésticos (*Felis catus*), anestesiados com cloridrato de tiletamina e zolazepam, não obtiveram amostra seminal de um animal. A ejaculação retrógrada é frequentemente observada durante ejaculação natural ou durante a eletroejaculação em gato doméstico, com percentuais de 15 a mais de 90% (DOOLEY et al., 1991).

Na ejaculação antrógrada observa-se três eventos: a emissão seminal, o fechamento do colo da bexiga e a expulsão seminal pela uretra peniana. Na ejaculação retrógrada, há o fechamento inadequado do colo da bexiga. Assim, não há aumento de pressão dentro da uretra prostática e o sêmen segue o caminho de menor resistência, indo para o interior da bexiga. Qualquer processo que interfira na

inervação simpática do sistema reprodutor e da bexiga pode resultar em retroejaculação (ROMAGNOLI et al., 1999).

Os felinos inoculados com taquizoítos de *T. gondii* (cepa “RH” – isolado tipo I) apresentaram mais sinais clínicos (Tabela 3), que os inoculados com cistos teciduais do parasito (cepa “P”- isolado tipo III). Em camundongos, esta inferência foi comprovada, sendo as cepas pertencentes ao isolado tipo I do parasito, mais virulentas que as pertencentes aos isolados tipo II e III, devido principalmente a sua alta capacidade de replicação no organismo do hospedeiro (BARRAGAN; SIBLEY, 2002). O surgimento de sinais clínicos ocorrem principalmente devido ao aumento na liberação de mediadores pró-inflamatórios, ocorrido durante a replicação do parasito (GRAVRILESCU; DENKERS, 2001).

Os sinais clínicos mais comumente observados nos felinos inoculados com *T. gondii* foram: apatia, hiporexia, pelos arrepiados, secreção nasal e secreção ocular. Todos comuns à toxoplasmose, de acordo com Dubey e Lappin (2006). A variedade dos sinais clínicos observados na toxoplasmose animal é decorrente do envolvimento do parasito em diferentes órgãos e sistemas, sendo o tipo e magnitude da sintomatologia clínica, dependente da localização do parasitismo pelo *T. gondii* e do grau de lesão tecidual provocada no órgão ou sistema parasitado (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Embora a grande quantidade dos animais de companhia sejam sorologicamente positivos para toxoplasmose, poucos desenvolvem sinais clínicos da doença (DUBEY; LAPPIN, 2006).

O felino RH1 apresentou sintomatologia nervosa sugestiva de toxoplasmose aguda no 51º DPI, logo após um quadro de obstrução uretral provocada por uma cistite intersticial felina, sendo excluído do estudo. Possivelmente, o estresse sofrido pelo felino RH1 durante a obstrução uretral, desencadeou o processo de reagudização da infecção toxoplásmica. É notório que o aumento de corticosteroides no organismo, em situações de estresse, pode provocar o rompimento de cistos teciduais latentes de *T. gondii*, ocasionando o aparecimento de sintomatologia clínica (LAPPIN, 1999; DUBEY, 2006). Segundo teoria defendida por Swinger et al. (2009), a manifestação clínica da toxoplasmose ocorre principalmente devido ao déficit na imunidade local ou sistêmica do organismo do hospedeiro, de modo que

indivíduos imunologicamente incompetentes são mais propensos a apresentar a infecção primária ou recorrente.

Em um estudo realizado por Dubey e Carpenter (1993), com 100 gatos com o diagnóstico positivo para toxoplasmose, foi confirmada pelo exame histopatológico, a presença de cistos (bradizoítos) ocorreu no sistema nervoso central de 96,4% dos felinos examinados, confirmando a alta afinidade do *T. gondii* pelo encéfalo de felinos, o que pode justificar o ocorrido com o felino RH1 do presente estudo.

Os sinais neurológicos da toxoplasmose dependem da localização do parasito no sistema nervoso (cérebro, cerebelo e medula espinhal), sendo a replicação do protozoário nestes tecidos, a principal causa de distúrbios convulsivos, déficits de nervos cranianos, ataxia, tremores, paresias e paralisias (DUBEY; LAPPIN, 2006).

O surgimento de sintomatologia clínica no felino RH1, impossibilitou a continuação do animal neste estudo. O tratamento do gato foi realizado conforme protocolo adotado no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, visando além do bem estar, a total recuperação do felino.

Outra alteração clínica observada, foi o surgimento de um abscesso no local da inoculação dos taquizoítos (Figura 4) no felino RH3 (6º DPI), sendo o mesmo drenado naturalmente no 10º DPI. Apesar de tomados os devidos cuidados no momento da inoculação como: desinfecção local e utilização de materiais estéreis (agulha e seringa), a formação deste abscesso pode ser atribuída a presença de bactérias, embora a formação de um abscesso asséptico, não seja descartada. Mesmo com a formação de abscesso no local da inoculação dos taquizoítos de *T. gondii* no felino RH3, a infecção foi bem sucedida. Fato comprovado pela soroconversão do animal (título máximo 1024) e parasitemia desenvolvida pelo protozoário.

Episódios de diarreia foram diagnosticados nos felinos P2 (8º DPI), P4 (7º e 8º DPI) e RH4 (21º ao 23º DPI) (Tabela 4), não podendo ser unicamente correlacionada com a infecção toxoplásmica, devido a ausência da pesquisa de outros fatores causadores deste tipo de sinal clínico. Apesar de ter sido diagnosticada em três felinos apenas, a diarreia é relatada por diversos autores como um dos sinais clínicos mais frequentemente observados em gatos com

toxoplasmose (CASTRO et al., 1976; LAPPIN et al., 1989; DUBEY et al., 1995; NAVARRO et al., 1998).

Análises coproparasitológicas foram realizadas somente nas amostras fecais dos felinos inoculados com cistos teciduais do parasito (GI), tendo em vista que, esta é a via clássica de infecção para a espécie animal estudada. A ausência das análises coproparasitológicas nas amostras fecais dos felinos inoculados via parenteral com taquizoítos (GII), se deu pelo fato de raramente ocorrer a formação de oocistos e consequentemente a excreção destes nas fezes de gatos inoculados pela via e estágio do parasito utilizados (JAMRA et al., 1985). Quanto ao grupo III, por se tratar de felinos comprovadamente negativos para toxoplasmose, com acompanhamento sorológico (RIFI), também não foi realizada a pesquisa de oocistos de *T. gondii* em fezes. É relevante informar que a realização das análises coproparasitológicas, neste estudo, teve como objetivo primário, confirmar a infecção toxoplásmica nos felinos inoculados com cistos teciduais do parasito (GI) e por consequência elucidar a curva de excreção de oocistos nas fezes destes animais.

Por meio das análises coproparasitológicas (microscopia de luz e bioprova em camundongos) realizadas nas amostras fecais colhidas (1º ao 17º DPI), dos felinos inoculados com cistos teciduais (GI), foi possível comprovar a excreção de oocistos de *T. gondii* em diferentes níveis em todos os animais. Dubey (2005), ao inocular bradizoítos de *T. gondii*, via oral, em felinos, constatou a eliminação de oocistos nas fezes de 100% dos animais, fato também ocorrido no presente estudo, onde todos gatos pertencentes ao grupo III eliminaram oocistos após a inoculação com cistos teciduais da cepa “P”.

Nesta avaliação, a bioprova em camundongos demonstrou-se mais sensível que a microscopia (Tabela 8). De acordo com Dubey (2009), a caracterização morfológica e o bioensaio em camundongos, são de suma importância na confirmação da presença de oocistos (*T. gondii*) nas fezes dos felinos, já que existem outros oocistos de protozoários (*Hammondia hammondi* e *Besnoitia* spp) que se assemelham morfológicamente com os de *T. gondii* em microscopia óptica.

A excreção de oocistos nas fezes dos felinos teve início no 5º DPI perdurando até o 13º DPI, divergindo dos resultados obtidos por Costa et al. (1979), que ao inocularem felinos com as amostras AS-28, observaram eliminação de oocistos, nas

fezes destes animais, do 3º ao 10º DPI. Como amplamente descrito na literatura, o período de eliminação de oocistos (*T. gondii*) por felinos, é muito variável, e está diretamente correlacionado com a via de infecção do felino, o isolado do parasito (cepa) e o estágio evolutivo do mesmo no momento da infecção (DUBEY, 1970; JAMRA et al., 1985; DUBEY, 1996; DUBEY, 2006). No 9º DPI foi observado o pico de excreção de oocistos do parasito (1219700 oocistos). Segundo Llorente-Lacha (1983), um felino pode excretar mais de 1 milhão de oocistos por dia nas fezes, fato também evidenciado no presente estudo, onde o felino P3 eliminou 1000500 oocistos no 9º DPI.

Em diferentes datas, foram observadas alterações (taquipnéia) nas frequências respiratórias médias obtidas dos felinos pertencentes aos três grupos experimentais (GI, GII e GIII), considerando como parâmetro de normalidade, 20 a 40 movimentos respiratórios por minuto (FEITOSA, 2008). Apesar dessas variações, apenas no 21º DPI as médias de movimentos respiratórios por minuto dos felinos GIII foram superiores estatisticamente ($p \leq 0,05$) às médias obtidas nos demais grupos (GI e GII). É importante salientar, que o exame físico em felinos pode constituir um fator estressante ao animal (FEITOSA, 2008), podendo a taquipnéia diagnosticada neste estudo, ser decorrente de tal evento.

Quando analisadas as frequências cardíacas médias e individuais mensuradas nos felinos (GI, GII e GIII), constatou-se que este parâmetro manteve-se dentro da normalidade (Feitosa, 2008) durante todo período experimental. Entretanto, do sétimo dia pré-inoculação até o 42º DPI as médias de frequência cardíaca obtidas no grupo I foram superiores estatisticamente ($p \leq 0,05$) as mensuradas no grupo II. Sakamoto et al. (2009), inoculando cistos teciduais da cepa TgCatBr 71 e TgCatBr 60 de *T. gondii* em gatas gestantes, não diagnosticaram alterações nos parâmetros clínicos aferidos desses animais, fato condizente com os resultados de frequência cardíaca obtida dos felinos inoculados com o parasito (GI e GII) no presente estudo.

As médias das temperaturas corporais obtidas em cada grupo experimental felino (GI, GII e GIII), permaneceram, em todas as datas experimentais, dentro dos parâmetros de normalidade (FEITOSA, 2008), não sendo observada diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre estes dados. Entretanto, individualmente foi diagnosticada

hipertermia nos felinos RH4 (dia 0), C1 (dia 0 e 14° DPI) e C2 (7° e 28° DPI) e hipotermia nos felinos RH1 (42° DPI), RH2 (21° e 28° DPI). O aumento da temperatura corpórea dos animais é um sinal característico na toxoplasmose felina (LAPPIN, 2004), contudo, no presente estudo tal achado foi evidenciado no felino RH4 (antes da inoculação) e nos animais não infectados (C1 e C2), impossibilitando correlacionar este evento à infecção toxoplásmica. Segundo Feitosa (2008), a dificuldade na contenção dos animais, podem stressá-los, causando hipertermia por esforço. Este fator pode ter sido preponderante no aumento da temperatura corpórea dos animais no presente estudo.

O estresse de alguns felinos impossibilitou em diferentes datas experimentais aferir a temperatura retal antes da anestesia, o que pode ter ocasionado hipotermia nos animais RH1 (42° DPI) e RH2 (21° e 28° DPI). O desenvolvimento de hipotermia durante a anestesia geral ocorre principalmente pela inibição central da termorregulação e consequente perda térmica (0,5 a 1°C/h), que ocorrem conjuntamente à termorregulação e redistribuição interna de calor (BIAZZOTTO et al., 2006).

Segundo Lappin (1999), não existem alterações hematológicas patognomônicas para toxoplasmose, entretanto, algumas alterações hematológicas puderam ser observadas neste estudo. Diferentes autores relatam anemia em animais infectados com *T. gondii* (ETTINGER et al., 2004; DUBEY; LAPPIN, 2006), fato não ocorrido no presente estudo, onde nenhum felino experimental (GI, GII e GIII) apresentou diminuição nas contagens de eritrócitos, na concentração de hemoglobina ou hematócrito durante todo período experimental.

Em contrapartida, nos felinos inoculados com a cepa “RH” (GII), foram evidenciados em diferentes datas experimentais, aumento no número de eritrócitos, nas concentrações de hemoglobina e nos hematócritos (Tabela 13). Estes animais ainda apresentaram após a infecção, médias de eritrócitos (14° DPI), concentração de hemoglobina (42° DPI) e hematócrito (7° e 14° DPI) estatisticamente ($p < 0,05$) superiores aos demais grupos (GI e GIII).

Segundo Thrall (2007), o aumento dos parâmetros eritrocitários estão intimamente ligados à desordens na medula óssea, ou em casos de desidratação. A desidratação dos animais pode ter sido a causa primária destas alterações

eritrocitárias observadas, tendo em vista que elas foram diagnosticadas, quase na sua totalidade, nos primeiros 28 dias pós-infecção (Tabela 13), coincidindo com o surgimento de sinais clínicos como apatia e hiporexia (Tabela 3), observados nos felinos inoculados com taquizoítos (cepa “RH”) do parasito.

Leucocitose e neutrofilia foram as alterações leucocitárias mais frequentemente diagnosticadas nos felinos experimentais (Tabela 15). Segundo Dubey e Lappin (2006), leucocitose seguida de neutrofilia é um achado comum em felinos com toxoplasmose. Esta inferência corrobora com achados do presente estudo, na qual foi possível diagnosticar leucocitose seguida de neutrofilia nos felinos RH2 (7º DPI), RH3 (-7, 0, 7º, 14º, 21º, 28º, 42º, 56º e 70º DPI) e RH4 (7º DPI). Segundo Thrall (2007) a ocorrência de neutrofilia está sempre correlacionada a um processo inflamatório, resposta a esteróide (estresse) ou resposta à excitação (liberação epinefrina). A neutrofilia sem desvio a esquerda (ausência de bastões), em conjunto com a linfopenia, observada nos felinos RH3 (7º DPI) e RH2 (21º DPI) (Tabela 15), é caracterizada em eventos de estresse crônico com liberação de corticosteroides (cortisol) na corrente circulatória (KLEMM, 1996; KERR, 2003; THRALL, 2007).

Além dos felinos RH3 (7º DPI) e RH2 (21º DPI), linfopenia também foi diagnosticada no felino P4 (70º DPI), pertencente ao grupo controle. O fato de ter sido diagnosticada a presença de alterações leucocitárias em felinos não infectados por *T. gondii* (GIII), reforçou a hipótese de outros fatores (principalmente o estresse), ter contribuído para o aparecimento de alterações hematológicas nos demais grupos experimentais.

Entretanto, o estresse causador da neutrofilia observada neste estudo, pode não estar somente ligado ao alojamento (em gaiolas) e manejo realizado com os felinos, podendo ser também atribuído à infecção toxoplásmica dos animais (GI e GII), principalmente nos primeiros dias pós-infecção, devido ao aparecimento de sinais clínicos da enfermidade.

Outro evento que pode ter contribuído no aparecimento da neutrofilia observada neste estudo, foi a formação de um abscesso no felino RH3 (6º DPI), no qual foi diagnosticado aumento de neutrófilos sem desvio a esquerda.

Monocitose foi a segunda alteração leucocitária mais observada nos reprodutores felinos do presente estudo (Tabela 15). Esta alteração foi também diagnosticada por Sakamoto et al. (2009), em felinos infectados com dois isolados de *T. gondii* (TgCatBr71 e TgCatBr60). Segundo Dubey e Lappin (2006) o aumento de monócitos quase sempre está presente na avaliação hematológica de felinos infectados pelo *T. gondii*. Além da toxoplasmose, a monocitose pode ser correlacionada a respostas inflamatórias agudas ou crônicas, e estar associada à ação aos esteróides em situação de stress (THRALL, 2007).

A ocorrência de eosinofilia foi somente observada nos felinos P2 (21°, 56° e 70° DPI), P3 (42° DPI), e C2 (56° DPI) (Tabela 15). O aumento de eosinófilos nos felinos inoculados com *T. gondii* (P2 e P3) corrobora com Pinto (2007), que diagnosticou aumento neste tipo de células em felinos infectados com o parasito. Segundo Thrall (2007) essa alteração está relacionada a reações alérgicas de hipersensibilidade e infecções parasitárias.

O aparecimento de eosinofilia no felino C2, coincidiu com a presença de uma infestação por *Ctenocephalides felis felis*, diagnosticada sete dias antes da colheita de sangue para análise hematológica (49° DPI). Notou-se que após a eliminação da infestação por pulgas (49° DPI), o nível sérico de eosinófilos do felino C2 retornou à normalidade (70° DPI) (Tabela 15).

Apesar de algumas alterações leucocitárias terem sido diagnosticadas durante a realização deste estudo, por meio das comparações múltiplas dos dados (Tabela 16), não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre as médias de leucócitos totais (basófilos, neutrófilos segmentados, eosinófilos, monócitos) e plaquetas obtidas dos três grupos felinos (GI, GII e GIII).

Alterações hematológicas foram diagnosticadas na sua maioria nos felinos inoculados com taquizoítos da cepa "RH" (isolado tipo I) de *T. gondii*, comprovando a maior virulência desta cepa em felinos, fato já evidenciado em camundongos (MONDRAGON et al., 1998; OWEN; TREES, 1999; BOOTHROYD; GRIGG, 2002; DUBEY et al., 2002; SEVÁ et al., 2006).

A curva de IgG anti-*T. gondii*, observada neste experimento, iniciou (Tabela 17), com recíproca sorológica de 64, no 7° DPI (felinos P4, RH2 e RH4). Navarro et al. (1998), descreveram uma rápida soroconversão em gatos (7° DPI) portadores de

infecção toxoplásmica experimental. Entretanto, em contrapartida a Navarro et al. (1998) que demonstraram recíproca sorológica máxima de 16384 em felinos primoinfectados com a cepa “VPS” do parasito, o título sorológico máximo detectado no presente estudo foi consideravelmente inferior, alcançando título de 1024 no felino RH3 do 21º ao 70º DPI. Segundo Dubey (1986), anticorpos relacionados à infecção crônica (IgG) possuem a capacidade de manterem-se “ativos” por um longo período de tempo, como observado no presente estudo, onde diagnosticou-se elevada atividade desta classe de anticorpos até 70º DPI, nos felinos inoculados com a cepa “RH”.

Os níveis de anticorpos nos felinos após a inoculação do parasito (Tabela 17), aponta uma diferença no perfil imunológico entre os animais dentro de cada grupo. Estas flutuações, particularmente importantes, podem estar associada à capacidade de resposta individual dos animais utilizados, como descrito por Sharma (1990), que atribuiu tais diferenças à capacidade de resistência individual de cada hospedeiro, ao *T. gondii*, regulada por genes dos antígenos do complexo de histocompatibilidade H-2. Como os reprodutores felinos utilizados no presente estudo não eram geneticamente homogêneos, parece perfeitamente coerente, que diferenças nas respostas imunológicas individuais sejam observadas.

Foi notória a superioridade estatística ($p \leq 0,05$) entre os títulos sorológicos (IgG anti-*T. gondii*) obtidos nos felinos inoculados com a cepa “RH”, em relação ao obtido pelos inoculados com a cepa “P”, como também evidenciado em ovinos por (LOPES et al., 2009).

A infecção toxoplásmica dos gatos experimentais, após a inoculação do parasito, pode ser também comprovada pelos surtos parasitêmicos por *T. gondii* evidenciados em todos os reprodutores felinos inoculados (GI e GII) por meio da bioprova e camundongos (Tabela 19).

No presente estudo não foi diagnosticada a eliminação de *T. gondii* no sêmen dos felinos inoculados com a cepa “P” e “RH” do parasito, por meio da bioprova em camundongos e pela nested PCR, nas diferentes datas experimentais. Tais resultados discordam dos relatados em pesquisas anteriormente realizadas em outras espécies, nas quais foi diagnosticada a presença de *T. gondii* em amostras seminais: humanos (MARTINEZ-GARCIA et al., 1996), bovinos (SCARPELLI et al.,

2009), suínos (MOURA et al., 2007), coelhos (LIU et al., 2006), caninos (ARANTES et al., 2009), caprinos (DUBEY; SHARMA 1980; SANTANA et al., 2010) e ovinos (SPENCE et al., 1978; BLEWETT et al., 1982; TEALE et al., 1982; LOPES et al., 2009; MORAES et al., 2010).

Nos exames histopatológicos e imunohistoquímicos realizados nos testículos e epidídimos colhidos dos felinos experimentais, pertencentes aos três grupos felinos, não foi possível identificar alteração sugestiva de toxoplasmose, nem tampouco a presença de cistos teciduais deste coccídeo. Resultado divergente ao obtido na pesquisa do *T. gondii* em cães (ARANTES et al., 2009), suínos (MOURA et al., 2007), caprinos (SANTANA et al., 2010), e ovinos (LOPES et al., 2009; BEZERRA et al., 2013), todos hospedeiros intermediários do parasito.

É relevante informar que a eliminação do *T. gondii* no sêmen, bem como, a identificação do parasito no sistema reprodutor, viabilizaram a transmissão sexual do coccídeo em cães (ARANTES et al., 2009), caprinos (SANTANA et al., 2013; WANDERLEY et al., 2013) e ovinos (LOPES et al., 2013). Os resultados obtidos no presente estudo possibilitam inferir que a transmissão via sexual em gatos domésticos, não parece ser uma via importante na disseminação da toxoplasmose entre felinos.

7. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos neste estudo, podem ser extraídas as seguintes conclusões.

- a) Todos os felinos inoculados com cistos (GI) e taquizoítos (GII) de *T. gondii*, apresentaram a infecção toxoplásmica, fato comprovado pelo diagnóstico de oocistos nas fezes (grupo I), surtos parasitêmicos e soroconversão (produção IgG anti- *T. gondii*) destes animais.
- b) Os felinos inoculados com a cepa “RH” (taquizoítos) do parasito, apresentaram mais sinais clínicos da enfermidade que os infectados com a cepa “P” (cistos teciduais).
- c) Embora alterações hematológicas tenham sido observadas nos felinos em diferentes datas deste estudo, tais alterações não podem ser atribuídas somente à infecção toxoplásmica.
- d) Por meio das técnicas de diagnóstico utilizadas nesse estudo (bioprova, nested PCR, análises histopatológica e imunohistoquímica) não foi detectada a ocorrência de *T. gondii* no sêmen, testículos e epidídimos dos reprodutores felinos primoinfectados com a cepa “P” e “RH” do parasito.
- e) Embora novos estudos sejam necessários, os resultados obtidos no presente estudo possibilitam inferir que a transmissão via sexual em gatos domésticos, parece não ser uma via importante na disseminação da toxoplasmose entre os felinos.

8. REFERÊNCIAS

AFONSO, E.; THULLIEZ, P.; GILOT-FROMONT, E. Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). **International Journal for Parasitology**, v. 36, n. 13, p. 1373-1382, 2006.

AL-KAPPANY, Y. M.; LAPPIN, M. R.; KWOK, O. C.; ABU-ELWAFI, S. A.; HILALI, M.; DUBEY, J. P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and concurrent *Bartonella* spp., feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, and *Dirofilaria immitis* infections in Egyptian cats. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 2, p. 256-258, 2011.

ARAMINI, J. J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): serology and oocyst shedding. **Journal of Parasitology**, v. 84, n. 02, p. 438-440, 1998.

ARAMINI, J. J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J. P.; ENGELSTOFT, C.; SCHWANTJE, H.; RIBBLE, C. S. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Epidemiology and Infection**. Cambridge, v. 122, n. 02, p. 305-315, 1999.

ARANTES, T. P.; LOPES, W. D. Z.; FERREIRA, R. M.; PIERONI, J. S. P.; PINTO, V. M. R.; SAKAMOTO, C. A.; COSTA, A. J. *Toxoplasma gondii*: Evidence for the transmission by semen in dogs. **Experimental Parasitology**, v. 123, p. 190-194, 2009.

ARAUJO, F. A. P.; SILVA, N. R. S.; OLICHESKI, A. T.; BECK, C.; RODRIGUES, R. J. D.; FIALHO, C. G. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, p. 89-92, 2003.

BARRAGAN, A.; SIBLEY, L.D. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. **The Journal of Experimental Medicine**, v.12, p.1625-1633, 2002.

BESNÉ- MÉRIDA, A.; FIGUEROA-CASTILLO, J. A.; MARTÍNEZ-MAYA, J. J.; LUNA-PASTÉN, H.; CALDERÓN-SEGURA, E.; CORREA, D. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Mexico City. **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 3-4, p. 310-313, 2008.

BEZERRA, M.J.G.; CRUZ, J.A.L.O.; KUNG, E.S.; MELO, R.P.B.; GOMES, A,L,V.; MORAES, E.P.B.X.; JUNIOR, J.W.P.; MOTA, R.A. Detecção de *Toxoplasma gondii* em órgãos do sistema reprodutivo de carneiros naturalmente infectados no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 8, p. 989-991, 2013.

BIAZZOTTO, C.B.; BRUDNIEWSKI, M.; SCHMIDT, A.P.; JUNIOR, J.O.C.A. Hipotermia no período peri operatório. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 56. n. 1, p. 89-106, 2006.

BLEWETT, D.A.; TEALE, A.J.; MILLER, J.K.; SCOTT, G.R.; BUXTON, D. Toxoplasmosis in rams: Possible significance of venereal transmission. **Veterinary Record**, v. 24, p. 73-77, 1982.

BOOTHROYD, J.C.; GRIGG, M.E. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease?. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 438-442, 2002.

BRACCINI, G. L.; CHAPLIN, E. L.; STOBÉ, N. S.; ARAÚJO, F. A. P.; SANTOS, N. R. Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, nos anos de 1986 a 1990. **Arquivos da Faculdade Veterinária da UFRGS**, v. 20, p. 134-149, 1992.

BRASIL. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO, Conselho nacional de controle de experimentação animal (CONCEA), Portaria n. 596, de 25 de junho de 2013, **Diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA**. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/DIRETRIZES%20DA%20PR%C3%81TICA%20E%20EUTAN%C3%81SIA%20DO%20CONCEA%20(1).pdf.

BRESCIANI, K. D. S.; COSTA, A. J.; TONIOLO, G. H.; SABATINI, G. A.; MORAES, F. R.; PAULILLIOS, A. C.; FERRAUDO, A. S. Experimental toxoplasmosis in pregnant bitches. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 2, p. 143-145, 1999.

BRESCIANI, K. D. S.; GENNARI, S. M.; SERRANO, A. C. M.; RODRIGUES, A. A. R.; UENO, T.; FRANCO, L. G.; PERRI, S. H. V.; AMARANTE, A. F. T. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. **Parasitology Research**, v. 100, n. 2, p. 281-285, 2007.

BROWN, R. R.; ELSTON, T. H.; EVANS, L.; GLASER, C.; GULLEDGE, M. L.; JARBOE, L.; LAPPIN, M. R.; MARCUS, L. C. American Association of Feline Practitioners. **Report on Feline zoonoses. Compendium**, v. 25, n. 12, p. 948-950, 2003.

CAMARGO, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 06, n. 03, p.117-118, 1964.

CASTRO, G.A.; BADIAL-ACEVES, F.; SMITH, J.W.; DUDRICK, S.J.; WEISBRODT, N.W. Altered small bowel propulsion associated with parasitism. **Gastroenterology**, v. 71, n. 4, p. 620-625, 1976.

CAVALCANTE, G. T.; AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D.; DUBEY, J. P.; RUIZ, V. L. A.; DIAS, R. A.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural western Amazon, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 863-864, 2006.

CERRO, L.; RUBIO, A.; PINEDO, R.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; BRENER, B.; LABARTHE, N. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats (*Felis catus*, Linnaeus 1758) living in Lima, Peru. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 90-93, 2014.

CHAPLIN, E. L.; SILVA, N. R. S.; SEBBEN, J. C.; ARAÚJO, F. A. P.; MENDEZ, L. D. V. Cadeia epidemiológica de toxoplasmose em Guaporé, RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 12, p. 25-34, 1984.

CHIARI, C. A.; NEVES, D. P.; PEREIRA NEVES, D. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 3, p. 337-340, 1984.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. Toxoplasmose. In: **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. p. 757-766.

COSTA, A. J.; ARAÚJO, F. G.; COSTA, J. O.; LIMA, J. D.; NASCIMENTO, E. Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 63, n. 2, p. 212-8, 1977.

COSTA, A.J.; COSTA, J.O.; LIMA, J.D.; ARAÚJO, F.G. Produção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em gatos experimentalmente infectados. **Ciência e Cultura**, v. 31, n. 16, p. 1170, 1979.

COSTA, G.H.N.; COSTA, A.J.; LOPES, W.D.Z.; BRESCIANI, K.D.S.; SANTOS, T.R.; ESPER, C.R.; SANTANA, Á.E. *Toxoplasma gondii*: Infection natural congenital in cattle and an experimental inoculation of gestating cows with oocysts. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 277-281, 2011.

CRAEYE, S.; FRANCAERT, A.; CHABAUTY, J.; DE VRIENDT, V.; GUCHT, S. V.; LEROUX, I.; JONGERT, E. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Belgian house cats. **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 1-2, p. 128-132, 2008.

CRUZ, M. A. **Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1908) em gatos domésticos (*Felis catus* - LINNAEUS, 1758) de Curitiba, Paraná.** 2007. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná. 2007.

CRUZ, M. A.; ULLMANN, L. S.; MONTAÑO, P. Y.; HOFFMANN, J. L.; LANGONI, H.; BIONDO, A. W. Soroprevalência de infecção anti-*Toxoplasma gondii* em gatos domésticos de Curitiba, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, 2011.

DA SILVA, A. V.; LANGONI, H.; Foods of animal origin and human toxoplasmosis. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 71, p. 34-39, 2000.

DE FEO, M. L.; DUBEY, J. P.; MATHER, T. N.; RHODES, R. C. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 12, p. 1714-1717, 2002.

DE SÁ, S.G. **Transmissão venérea de *Toxoplasma gondii* em camundongos experimentalmente infectados com oocistos da cepa ME49.** 2011. Dissertação. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2011.

DOOLEY, M.P.; PINEDA, M.H.; HOPPER, J.G.; HSU, W.H. Retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of cats during electroejaculation, collection of semen with artificial vagina, and mating. **American journal of veterinary**, v. 52, n. 5, p. 687- 691, 1991.

DORNY, P.; SPEYBROECK, N.; VERSTRAETE, S.; BAEKE, M.; BECKER, A. D. E.; BERKVENS, D.; VERCRUYSSSE, J. Serological survey of *Toxoplasma gondii*, feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in urban stray cats in Belgium. **Veterinary Record**, v. 151, n. 21, p. 626-629, 2002.

DREESEN D. W. *Toxoplasma gondii* infections in wildlife. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 196, v. 2, p. 274-276, 1990.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1019-1024, 1998.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton: CRC Press Inc. 1988. p. 01-220.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952- 1990). **Journal of the American Hospital Association**, v. 203, n. 11, p. 1556-1566, 1993.

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

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **Journal of Protozoology**, v. 19, p.155-177, 1972.

DUBEY, J.P.; GRAHAM, D. H.; BKASCJSTIB, C.R.; LEHMANN, T.; GENARI, S.M.; RAGOZO, A.M.A.; NISHI, S.M.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; HILL, D.E.; THULLIEZ, P. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil:unexpected findings. **Internacional Journal for Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2002.

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

DUBEY, J.P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. **Journal Parasitology**, v. 82, p. 957–960, 1996.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R.; THULLIEZ, M. Diagnosis of induced toxoplasmosis in neonatal cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 2, p. 179-185, 1995.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. St. Louis: Elsevier, 2006. p. 754-775.

DUBEY, J.P.; MATTIX, M.E.; LIPSCOMB, T.P. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 3, p. 290-295, 1996.

DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **Journal of Experimental Medicine**, v. 132, p. 636-662, 1970.

DUBEY, J. P.; NAVARRO, I. T.; SREEKUMAR, C.; DAHL, E.; FREIRE, R. L.; KAWABATA, H. H.; VIANNA, M. C. B.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; THULLIEZ, P.; LEHMANN, T. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brasil: seroprevalence, tissue distribution, and biological and genetic characterization of isolates. **Journal Parasitology**, v. 90, n. 4, p. 721-726, 2004.

DUBEY, J. P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. **Veterinary Parasitology**. v. 74, p. 75-7, 1998a.

DUBEY, J. P.; SAVILLE, W. J. A.; STANEK, J. F.; REED, S. M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from rural Ohio. **Journal Parasitology**, v. 88, n. 4, p. 802-803, 2002.

DUBEY J. P.; SHARMA S. P. Prolonged excretion of *Toxoplasma gondii* in semen of goats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 794-795, 1980.

DUBEY J. P.; SU, C.; CORTE´S, J. A.; SUNDAR, N.; GOMEZ-MARIN, J. E.; POLO, L. J.; ZAMBRANO, L.; MORA, L. E.; LORA, F.; JIMENEZ, J.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; ZHANG, X.; NIETO, A.; THULLIEZ, P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. **Veterinary Parasitology**. v. 141, p. 42–47, 2006.

DUBEY, J. P.; SWAN, G. V.; FRENKEL, J. K. A simplified method for isolation of *Toxoplasma gondii* from the faeces of cats. **Journal Parasitology**, v. 58, p. 1005-1006, 1972.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.189, p.166-170, 1986.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2 Ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.

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

DUBEY, J. P.; TOWLE, A. Toxoplasmosis in sheep. St. Albans: **Commonwealth Institute of Parasitology**, v. 64, p. 11, 1986.

DUBEY, J. P. Unexpected oocyst shedding by cats fed *Toxoplasma gondii* tachyzoites: In vivo stage conversion and strain variation. Toxoplasmosis—a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 133, p. 289-298, 2005.

DUMÈTRE, A.; DARDÉ, M. L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 651-661, 2003.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. p. 1038.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a Arte do Diagnóstico**. 2. Ed. São Paulo: Editora Roca, 2008.

FIGUEROA DAMIAN, R. Risk of transmission of infectious diseases by transfusion. **Ginecología y Obstetricia de México**, v. 66, p. 277-283, 1998.

FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis. Mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. **Current topics in pathology**, v. 54, p. 29-75, 1971.

FRENKEL, J. Toxoplasmosis parasite life cycle, pathology and immunology. In: HAMMOND D. M.; P. L. **The coccidian**. Baltimore: University Park Press, 1973. p. 343.

FREYRE, A.; CHOROMANSKI, L.; FISHBACK, J. L.; POPIEL, I. Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites and tachyzoites of the T. 263 strain of *T. gondii*. **Journal Parasitology**, v. 79, p. 716-719, 1993.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; et al., Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, p. 91-97, 1999.

GAUSS C. B. L.; ALMERÍA S.; ORTUÑO A.; GARCIA F.; DUBEY J. P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from Barcelona, Spain. **Journal Parasitology**, v. 89, n. 5, p. 1067-1068, 2003.

GEFFRAY, L.; PARIS, C. Risques infectieux des animaux de compagnie. **Médecine et maladies infectieuses**, v. 31, p. 126-142, 2001.

GIRALDI, N.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I. T.; GARCIA, J. L.; OGAWA, L.; KOBAYKA, E. *Toxoplasma* antibody and stool parasites in public school children, Rolândia, Paraná, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 35, n. 3, 2001.

GRAVRILESCU, L.C.; DENKERS, E.Y. IFN-gamma overproduction and high level apoptosis are associated with high but not low virulence *Toxoplasma gondii* infection. **The Journal of Immunology**, v. 167, p. 902-909, 2001.

HAY, I.; HUTCHINSON, W. M. *T. gondii* – an environment contaminant. **Ecology of Disease**, v. 2, p. 33-43, 1983.

HIRAMOTO, R. M.; MAYRBAURL-BORGES, M.; GALISTEO JR., A. J.; MEIRELES, L. R.; MACRE, M. S.; ANDRADE JR., H. F. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. **Revista Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 113-118, 2001.

HONG, S.; JEONG, Y.; KIM, J.; CHO, S.; LEE, W.; LEE, S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Household Cats in Korea and Risk Factors. **Korean Journal Parasitology**, v. 51, n. 3, p. 357-361, 2013.

HOWARD, J. G.; BUSH, M.; HALL, L. L.; WILDT, D. E. Morphological abnormalities in spermatozoa of 28 species of non-domestic felids. In: **INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION**, 10., 1984. Urbana-Champaign. 1984. p. 57.

HUYNH, M. H.; RABENAU, K. E.; HARPER, J. M.; BEATTY, W. L.; SIBLEY, L. D.; CARRUTHERS, V. B. Rapid invasion of host cells by *Toxoplasma* requires secretion of the MIC2-M2AP adhesive protein complex. **The EMBO Journal United Kingdom**, v. 22, p. 2082-2090, 2003.

ISRAELKI, D.M., REMINGTON, J.S. Encefalite toxoplásmica em pacientes com AIDS. **Clin. Doenças Infec. Parasit Amer Norte**, v. 2, p. 451-469, 1988.

JAMRA, L.M.F.; SOGORB, S.F.; GUIMARÃES, E.C. Reinfecção pelo *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em camundongos e gatos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 27, p. 318-327, 1985.

JANKU, J. Pathogenesis and pathologic anatomy of coloboma of macula lutea in eye of normal dimensions, and in microphthalmic eye, with parasites in the retina. **Casopis Lékaru Českých**, v. 62, p. 1021-1027, 1923.

JITTAPALAPONG, S; NIMSUPAN, B.; PINYOPANUWAT, N.; CHIMNOI, W.; KABEYA, H.; MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 45, n. 1-2, p. 138-141, 2006.

JONES, J. L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital Toxoplasmosis: A Review. CME REVIEW ARTICLE. **Obstetrical and Gynecological Survey**, v. 56, n. 5, p. 296-305, 2001.

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2003.

KLEMM, W.R. Fisiologia comportamental. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes: **Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 825-841.

KOCH, M.O. **Isolamento *in vitro* de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* do sêmen de cães naturalmente infectados.** 2014. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal do Paraná. 2014.

KULASENA, V. A.; RAJAPAKSE, R. P.; DUBEY, J. P.; DAYAWANSA, P. N.; PREMAWANSA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Cats from Colombo, Sri Lanka. **Journal of parasitology**, v. 97, n. 1, p. 152, 2011.

LANGONI, H.; SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; CUNHA, E. L. P.; CUTOLO, A. A. Prevalence of toxoplasmosis in cats from São Paulo and Paraná States. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**. v. 38, n. 1/6, p. 243-244, 2001.

LAPPIN, M. R. Feline toxoplasmosis. **In Practice**, v.21, n.10, p.578-589, 1999.

LAPPIN, M. R. Feline Zoonotic Diseases. In: The Veterinary Clinics Of North América: Small Animal Practice. **Saunders Company**, v. 23, p. 55-77, 1993.

LAPPIN, M. R.; GREENE, C. E.; PRESTWOOD, A. K; DAWE, D. L.; TARLETON, R. L., Diagnosis of recent *Toxoplasma gondii* infection in cats by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 1580-1585, 1989.

LAPPIN, M. R. **Segredo em medicina interna de felinos.** Porto Alegre: Artmed, 2004.

LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B.M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R.; LOM, J.; LYNN, P.; MERINFELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V. VAVRA, J.; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal of Protozoology**, v. 27, p. 37-58, 1980.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; BUTLER, J. M.; BLAGBURN, B. L. Mechanical transmission of *T. gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 73, p. 27-33, 1997.

LIU, S.G.; QIN, C.; YAO, Z.J.; WANG, D. Study on the transmission of *Toxoplasma gondii* by semen in rabbits. **Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi, Xinxinang**, v. 24, n. 3, p. 166-170, 2006.

LLORENTE LACHA, V., A. R. MARTINEZ FERNANDEZ, AND J. J. GARCIA DIAZ. Caracterizacion de la cepa V-1 de *Toxoplasma gondii* (Sporozoa). II. Inoculacion en hospedadores definitivos. **Revista Ibérica de Parasitología**, v. 43, p. 15-24, 1983.

LOPES, A. P.; CARDOSO, L.; RODRIGUES, M. Serological of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. **Veterinary Parasitology**, v. 155, p. 184-189, 2008.

LOPES, W. D. Z.; COSTA, A. J.; SOUZA, F. A.; RODRIGUES, J. D. F.; COSTA, G. H. N.; SOARES, V. E.; SILVA, G. S. Semen variables of sheep (*Ovis aries*) experimentally infected with *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909). **Animal Reproduction Science**, v. 111, p. 312-319, 2009.

LOPES, W.D.Z.; RODRIGUEZ, J.D.; SOUZA, F.A.; DOS SANTOS, T.R.; DOS SANTOS, R.S.; ROSANESE, W.M.; LOPES, W.R.Z.; SAKAMOTO, C.A.M; COSTA, A.J. Sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 47-56, 2013.

LUCAS, S. R. R.; HAGIWARA, M. K.; LOUREIRO, V. S.; IKESAKI, J. Y., BIRGEL, E. H. *Toxoplasma gondii* infection in Brazilian domestic outpatient cats. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 41, p. 221-224, 1999.

LUCAS, S. R. R.; HAGIWARA, M. K.; RECHE, A.; GERMANO, P. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma* em gatos infectados naturalmente pelo vírus da imunodeficiência dos felinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, p. 41-45, 1998.

LUI, J. F.; TONIOLLO, G. H.; SAVI, P. A. P.; VOORWALD, F. A.; SILVA, M. A. M.; TOSTA, P. A. Esterilização cirúrgica de caninos e felinos em Jaboticabal. Interação entre o benefício social e a pesquisa científica. **Revista Ciência em Extensão**, v. 7, n. 2, p. 34, 2011.

MAMIDI, A.; DESIMONE, J. A.; POMERANTZ, R. J. Central nervous system infectious in individuals with HIV-1 infection. **Journal Neurovirology**, v. 8, n. 3, p. 158-67, 2002.

MARUYAMA, S.; KABEYA, H.; NAKAO, R.; TANAKA, S.; SAKAI, T.; XUAN, X.; KATSUBE, Y.; MIKAMI, T. Seroprevalence of *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV and FeLV infections in domestic cats in Japan. **Microbiology and Immunology, Richmond**, v. 47, n. 2, p. 147-153, 2003.

MARTINEZ-GARCIA F.; REGADERA J.; MAYER R.; SANCHEZ S.; NISTAL M. Protozoan infections in the male genital tract. **Journal of Urology**, v. 156, p. 340-349, 1996.

MEIRELES, L. R. **Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo**. 2001. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade de São Paulo. São Paulo. 2001.

MEIRELES, L. R.; GALISTEO JUNIOR, A. J.; POMPEU, E.; ANDRADE JUNIOR, H. F. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, n. 8, p. 876-881, 2004.

MENDEZ L. D. V. **Prevalência de coccídios e anticorpos anti-toxoplásmicos em gatos domésticos de Porto Alegre-RS, Brasil. Porto Alegre-RS.** 1983. 38 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1983.

MIRÓ, M.; MONTOYA, A.; JIMÉNEZ, S.; FRISUELOS, C.; MATEO, M.; FUENTES, I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 249-255, 2004.

MONDRAGON, R.; HOWE, D.K.; DUBEY, J.P.; SIBLEY, L.D. Genotypic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs. **Journal of Parasitology**, v. 84, p. 639-641, 1998.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**. United Kingdom, v. 363, p. 1965–1976, 2004.

MORAES, E. P. B. X.; FARIA, E. B.; BATISTA, A. M.; FREITAS, A. C.; SILVA, J. C. R.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; MOTA, R. A. Detecção de *Toxoplasma gondii* no sêmen de ovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 11, p. 915-917, 2010.

MOURA, A. B.; COSTA, A. J.; JORDÃO FILHO, S.; PAIM, B. B.; PINTO, F. R.; DI MAURO, D. C. T. *gondii* in sêmen of experimental infected swine. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 430-434, 2007.

MUNIR, A.; ZAMAN, M.; ELTORKY, M. *Toxoplasma gondii* pneumonia in a pancreas transplant patient. **Southern Medical Journal**., v. 93, n. 6, p. 614-617, 2000.

NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; SILVA, A. C. B.; MITSUKA, R.; JANKEVICIUS, J. V.; SHIDA, P. N.; CORTÊS, J. A. Comportamento imunológico e antigênico de cinco amostras de *Toxoplasma gondii* inoculadas em gatos. **Ciência Rural**, v. 28, n. 3, p. 453-459, 1998.

NETTO, E. G.; MUNHOZ, A. D.; ALBUQUEQUERQUE, G. R.; LOPES, C. W. G.; FERREIRA, A. M. R. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: *Toxoplasmatinae*) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, p. 145-149, 2003.

NUNES, J. O. R. **Caracterização da população de cães e gatos e avaliação do nível de conhecimento dos moradores sobre zoonoses e posse responsável dos animais de estimação no bairro Centro do Município de Jaboticabal/SP**. 2008. 41 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL PARA A SAÚDE ANIMAL - OIE. **Terrestrial Animal Health Code**, 2008. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_glossaire.htm#sous-chapitre-2>. Acesso em: 11 nov. 2014.

OWEN, M.R.; TREES, A.J. Genotyping of *Toxoplasma gondii* associated with abortion in sheep. **Journal of Parasitology**, v. 85, p. 382-384, 1999.

PENA, H. F. J.; SOARES, R. M.; AMAKU, M.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. **Research in Veterinary Science**, v. 81, p. 58-67. 2006.

PETRAK, M.; CARPENTER, J. Feline toxoplasmosis. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 146, p. 728-734, 1965.

PINTO L. D. **Soroepidemiologia do *Toxoplasma gondii* em felinos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. Porto Alegre, RS. 2007. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.**

REIF, J.S. Toxoplasmosis: Assessment of the Role of Cats in Human Infection. **Compendium Collection**, v. 2, n. 10, p. 157-162, 1980.

ROMAGNOLI, S. Retrograde ejaculation in the dog. **WSAVA CONGRESS**. 1999.

ROSA, J. A.; BUAINAIN, A.; BELDA NETO, F. M. *Toxoplasma gondii* em gatos da cidade de Araraquara-SP – Estudo sorológico e coproparasitológico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 8/9, p. 105-111, 1987.

ROSA, L. D.; MOURA, A. B.; TREVISANI, N.; MEDEIROS, A. P.; SARTOR, A. A.; SOUZA, A. P.; BELLATO, V. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, 2010.

SABIN, A.B.; FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, p. 660-663, 1948.

SACKS, J. J.; ROBERTO, R. R.; BROOKS, N. F. Toxoplasmosis infection associated with raw goat' smilk. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 48, p. 1728-1732, 1982.

SAKAMOTO, C. A. M.; COSTA, A. J.; GENNARI, S. M.; PENA, H. F.; TONIOLO, G. H.; LOPES, W. D.; BICHUETTE, M. A.; BETINI, M. A.; AMARANTE, A. F.; BRESCIANI, K. D. S. Experimental infection of pregnant queens with two major Brazilian clonal lineages of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Research**, v.105, n.5, p.1311-1316, 2009.

SANTANA, L. F.; COSTA, A. J.; PIERONI, J.; LOPES, W. D. Z.; SANTOS, R. S.; OLIVEIRA, G. P.; MENDONÇA, R. P.; SAKAMOTO, C. A. M. Detection of *Toxoplasma gondii* in the reproductive system of male goats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 179-182, 2010.

SANTANA, L.F.; ROSSI, G.A.M.; GASPAR, R.C.; PINTO, V.M.R.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J. Evidence of sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in goats. **Small Ruminant Research**, v. 115, p. 130-133, 2013.

SANTOS, J. A.; NOVLOSKI, G.; PEREIRA, E. F. C.; REZENDE, A. M. L. Estudos sobre incidência e as lesões histopatológicas da toxoplasmose em mamíferos domésticos (cães e coelhos) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 3, p. 275-83, 1968.

SANTOS, S. M.; AMARAL, V.; REBOUÇAS, M. M.; DRUMOND, L. S. Anticorpos anti*Toxoplasma* detectados por hemaglutinação indireta em soros de gatos domésticos provenientes da capital de São Paulo, Brasil. **O Biológico**, v. 49, p. 163-165, 1983.

SAS, Institute, 2001. **SAS User's Guide**: Estatistics. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.

SCARPELLI, L. C.; LOPES, W. D. Z.; MIGANI, M. B.; BRESCIANI, K. D. S.; COSTA, A. J. *Toxoplasma gondii* in experimentally infected *Bos Taurus* and *Bos indicus* semen and tissues. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p. 59-64, 2009.

SEVÁ, A.P.; DA SILVA, R.C.; DA SILVA, A.; CASTRO, A.P.B.; MENOZZI, B.D.; LANGONI, H. Avaliação da virulência de cepas de *Toxoplasma gondii*, em camundongos, isoladas de cães com sinais neurológicos, em Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 1, p. 33-43, 2006.

SHARIF, M.; DARYANI, A.; NASROLAHEI, M.; ZIAPOUR, S.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in stray cats in Sari, northern Iran. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, p. 183-187, 2009.

SHARMA, S. D. Immunology of toxoplasmosis,. In: WYLER, D. J. **Modern parasite biology cellular, immunological and molecular aspects**, New York W. H. Freeman & Co, 1990. p. 184-199

SHERDING, R. G. Toxoplasmose, Neosporose e outras Infecções Protozoárias ulitissistêmicas. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos animais**. São Paulo: Editora Roca, 1998. p.157-162.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 7-11, 2002.

SILVA, J. C. R.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M. A.; AMAJONES, V. R.; MAGNABOSCO, C.; YAI, L. E. O.; FERREIRA-NETO, J. S.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestics cats from Guarulhos and São Paulo, Brasil. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 2, p. 419-420, 2002.

SILVA, H.M.; PEREIRA, M.M.; ÁVILA, T.O.; TEIXEIRA, H.MS.; GARCIA, J.L.; LANGONI, H.; PEREIRA, V.B.; BRESCIANI, K.D.S.; SOARES, V.E.; COSTA, A.J. Congenital transmission in reinfected goats with *Toxoplasma gondii*. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 23, p. 1-21, 2014.

SILVA, L. A.; VIEIRA, R. S.; SERAFINI, L. N.; JUNIOR, C. G. C.; FIGUEIREDO, J. F. C. Toxoplasmose do sistema nervoso central em pacientes sem evidência de imunossupressão: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 5, 2001.

SILVA, R. C.; SU, C.; LANGONI, H. First identification of *Sarcocystis tenella* (Railliet, 1886) Moule', 1886 (Protozoa: Apicomplexa) by PCR in naturally infected sheep from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.165, p. 332–336, 2009.

SILVA, T.F.P.; DIAS, C.G.A.; CARDOSO, J.F.S.; UCHOA, D.C.; BRAGA, A.C.P.; ACKERMANN, C.L.; PINHEIRO, F.T.S.; BRILHANTE, D.F.M.; CARNEIRO, R.D.; TAVERNEZI, L.; QUINTO, H.R.; SILVA, L.D.M. Comparação de quatro protocolos anestésicos para a coleta de sêmen por eletroejaculação em gatos domésticos. **Ciência Animal**, v.18, n.1, p.15-23, 2008.

SOGORB, F.; JAMRA, L. F.; GUIMARÃES, E. C.; DEANE, M. P. Toxoplasmose espontânea em animais domésticos e silvestres em São Paulo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, p. 314-320, 1972.

SPENCE, J.B.; BEATTIE, J.; FAULKNER, L.; WATSON, W.A. *Toxoplasma gondii* in the sêmen of rams. **Veterinary Record**, v. 102, p. 38-39, 1978.

SUMMER, B.; ACHLAND, M. L. *Toxoplasma gondii* antibody in domestic cats in Melbourne. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 7, p. 447 – 449, 1999.

SWANGO, L. J.; BANKEMPER, K. W.; KONG, L. I. Bacterial, rickettsial, protozoal and miscellaneous infections. In: ETTINGER, S.J. **Text book of veterinary internal medicine**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1989. p. 265-297.

SWINGER, R.L.; SHMIDT, K.A.; DUBIELZIG, R.R. Kerato conjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. **Veterinary Ophthalmology**, v.12, n.1, p.56-60, 2009.

TEALE, A.J.; BLEWATT, D.A.; MILLER, J.K.; BUXTON, D. Experimentally induced toxoplasmosis in Young rams: The clinical syndrome and sêmen secretion of *Toxoplasma*. **Veterinary Record**, v. 17, p. 53-55, 1982.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, Oxon, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, p. 582.

VARGAS, C. S. G. **Títulos de anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1908) e de oocistos em fezes de gatos de rua (*Felis catus* – LINNAEUS, 1758) em Curitiba, Paraná**. 2006. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

VELASCO-CASTREJON, O.; SALVATIERRA-IZABA, B.; VALDESPINO, J.L.; SEDANO-LARA, A.M.; GALINDO-VIRGEN, S.; MAGOS, C. Soroepidemiologia de la *Toxoplasma* em Mexico. **Salud Publica Mexicana**, v. 34, p. 222-229, 1992.

VIEIRA, D.K.; SUZANO, S.M.C.; SILVEIRA, A.M.; PIRES, M.V.M.; LIBONATI, J. 2007. Avaliação clínica, citológica e seminal em gatos domésticos (*Felis catus*) para seleção de reprodutores. IN: **XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal Anais do Colégio Brasileiro de Reprodução**. CBRA.17:235.

VOLLAIRE, M. R.; RADECKI, S. V.; LAPPIN, M. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 5, p. 874-877, 2005.

WANDERLEY, F.S.; PORTO, W.J.N.; CAMARA, D.R.; CRUZ, N.L.N.; FEITOSA, B.C.O.; FREIRE, R.L.; MORAES, E.O.B.X.; MOTA, R.A. Experimental Vaginal Infection of Goats with Semen Contaminated with the “CPG” Strain of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 4, p. 610-613, 2013.

WEINMAN, D.; CHANDLER, A.H. Toxoplasmosis in swine and rodents; reciprocal oral infection and human hazard. **Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 87, p. 211-216, 1954.

WOLF, A.; COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to na encephalytozoon (encephantozic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. **Bolletin Neurology institute**, v. 6, p. 306-371, 1937.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **Aids**. v. 07, n. 03, p. 299-316, 1993.

ZAMAN, V. Morfology of *Toxoplasma* oocysts and its comparison with other cat coccidia. **South Asian Journal Tropical Medicine Public Health**, v. 1, n. 3, p. 329-335, 1970.

ANEXOS

Anexo 1. Valores de referência para os Parâmetros Clínicos felinos.

Parâmetro Clínico	Valor de referência*
Frequência cardíaca	120 a 240 Bpm
Frequência Respiratória	20 a 40 Mpm
Temperatura Retal	37,8 a 39,2 C

*Feitosa (2008).

Anexo 2. Valores de referência para os Parâmetros Hematológicos e Bioquímicos.

Parâmetros Hematológico/Bioquímico	Valor de referência
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,0 – 11,0*
Hemoglobina (g/dL)	8 – 15*
Hematócrito (%)	25 – 45*
Leucócitos (μL)	5.500 – 12.500*
Basófilos (μL)	Raros (0 – 100)*
Bastonetes (μL)	0 – 300*
Segmentados (μL)	2.500 – 12.500*
Eosinófilos (μL)	0 – 1.500*
Linfócitos (μL)	1.500 – 7.000*
Monócitos (μL)	0 – 800*
Número de plaquetas (mm^3)	150.000 – 700.000*
Uréia (mg/dL)	42,8 – 64,2**
Creatinina (mg/dL)	0,8 – 1,8**

*Thrall (2007)

**Kaneko (1997)