

CAMILA MARIELLEN EVANGELISTA

**DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM
CANINOS E FELINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências Agroveterinárias, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Dra. Sandra Davi Traverso
Coorientador: Dr. Aldo Gava

**LAGES/SC
2015**

Evangelista, Camila Mariellen
Diagnóstico de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em caninos e felinos no Estado de Santa Catarina / Camila Mariellen Evangelista- Lages, 2015.

117 p.: il.; 21 cm

Orientadora: Sandra Davi Traverso

Coorientador: Aldo Gava

Bibliografia: 89-117 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2015.

1. Animais de companhia. 2. Protozoários. 3. IHQ. 4. Patologia I. Evangelista, Camila Mariellen. II. Traverso, Sandra Davi. III. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título

Ficha elaborada pelo aluno.


CAMILA MARIELLEN EVANGELISTA

**DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM
CANINOS E FELINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal, como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora

Orientadora _____
Profa. Dra. Sandra Davi Traverso
Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages, SC

Membro  _____
Profa. Dra. Joelma Luciola
Universidade Regional de Blumenau – Blumenau, SC

Membro _____
Profa. Dra. Renata Assis Casagrande
Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages, SC

Dedico este trabalho ao arcanjo Miguel por conquistar esta batalha árdua.

A minha família e aos meus amigos pelo apoio incondicional. A minha amada Joaninha (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus o Pai, Deus o Filho e a Deus o Espírito Santo pelo apoio incondicional nesses últimos meses mais difíceis de minha vida. Não tenho palavras para expressar o amor que sinto por ti Magnífico Deus, jamais poderia imaginar o quanto tu és bom e amável. Obrigada por tudo e hoje eu reconheço a sua luz. Mesmo sendo pó, com tudo que há dentro de meu coração eu confessarei que céus e terra passarão, mas o teu nome é eterno.

Gratidão aos meus sogros Zoraide Xavier e Joel Xavier pelo apoio nos momentos difíceis, principalmente antecedendo a defesa do mestrado, vocês são um presente de Deus, obrigada pelo auxílio. Ao meu amado esposo, Pablo José Xavier, pelo amor incondicional, pelo apoio nesses meses tempestuosos, pelas orações, pela paciência, pelo cuidado e carinho, eu te amo muito meu amor.

Aos meus filhos de quatro patas Tigrinho, Bruno Duck, Meg e Maia pelo amor, pela paciência e principalmente por me abraçarem nos momentos tristes, trazendo felicidade ao meu coração. A minha gata amada Joaninha (*in memoriam*) por me presentear com sua companhia durante 21 anos de amor, cumplicidade, carinho e amizade.

Aos meus melhores amigos, Vanessa Borelli, Patrícia Ullrich, Frida Ullrich, Sara Ullrich, Iane Santos e Carine Bach, pelo apoio em momentos difíceis, pela amizade, pela motivação, pelos momentos divertidos e principalmente pelas orações, amo vocês!

A minha orientadora Profa. Dra. Sandra Davi Traverso pela oportunidade de realizar o mestrado e pelo apoio quando cheguei a Lages, minha eterna gratidão.

A CAPES e a FAPESC pela concessão da bolsa e a todos que me auxiliaram nesta etapa do mestrado.

...Mas na minha luta contra eles não há ninguém para me ajudar, a não ser Miguel, o anjo protetor de Israel. Ele tem a responsabilidade de me ajudar e defender.

(Daniel 10:24-11:1)

RESUMO

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são protozoários, cosmopolitas, de ciclos biológicos heteróxeos. *Toxoplasma gondii* é responsável por doença clínica em cães e gatos, enquanto *Neospora caninum* acomete somente cães. O objetivo desse trabalho foi diagnosticar, através da imuno-histoquímica (IHQ), casos de toxoplasmose e neosporose em cães e gatos no Estado de Santa Catarina. Foi realizado um levantamento nos arquivos do Laboratório de Patologia Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) no período de 1988 a 2015, dos casos diagnosticados como suspeitos de toxoplasmose e neosporose em caninos e felinos. Os blocos obtidos foram reprocessados rotineiramente e recorados pelas técnicas de hematoxilina e eosina. Realizou-se também IHQ anti-*T. gondii* e *N. caninum*. Os casos em cães que havia suspeita de cinomose realizou-se IHQ para esse vírus. Foram diagnosticados 27 casos de toxoplasmose, sendo 25 em cães e dois em gatos. A idade dos cães variou entre 2 meses a 8 anos, com 9 animais até 4 meses de idade. Em 12 casos a cinomose estava associada à doença. Os principais sinais clínicos apresentados pelos cães foram problemas respiratórios, entéricos e neurológicos. Na necropsia dos caninos as principais lesões observadas foram no pulmão e fígado. Na histologia observou-se necrose fibrinoide, principalmente em pulmão, fígado e linfonodo. Os órgãos que mais apresentaram cistos e/ou taquizoítos intralesionais foram o pulmão, o encéfalo e o fígado. Dos dois felinos com toxoplasmose, um foi associado à leucemia linfoide. Em ambos os animais havia necrose fibrinoide associada à taquizoítos e/ou cistos intralesionais no pulmão, fígado, linfonodo e em um felino no encéfalo. Um canino foi positivo para *Neospora caninum* e os sinais clínicos apresentados foram neuromusculares e megaesôfago. As lesões histológicas eram caracterizadas por encefalite, miosite e miocardite necrótica com cistos e taquizoítos livres. *Neospora caninum* e *Toxoplasma*

gondii são morfologicamente semelhantes, contudo, os sinais neurológicos e a miosite são mais frequentes na neosporose. Enquanto *Toxoplasma gondii* está associado com infecções intercorrentes, *Neospora caninum* parece ser um patógeno primário.

Palavras-chave: Animais de companhia, Protozoários, IHQ, Patologia.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii and *Neospora caninum* are cosmopolitan protozoa, with heteroxenos biological cycles. *Toxoplasma gondii* is the responsible for clinical disease in cats and dogs, while *Neospora caninum* affects dogs only. The proposal of this study is to do diagnoses of cases of toxoplasmosis and neosporosis in companion animals in the state of Santa Catarina, using immunohistochemistry. A search in the files between 1988 and 2015, about the cases with suspicion of toxoplasmosis and neosporosis in dogs and cats, was realized in the Animal Pathology Laboratory. The blocks obtained were routinely reprocessed and recolorados by hematoxylin and eosin techniques and after, were stained by immunohistochemistry for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* and distemper. Clinical data from autopsies and histological results were compiled. There were diagnosed 27 cases of toxoplasmosis, 25 dogs and 2 cats. The age of the dogs ranged from 2 months to 8 years with 9 animals up to 4 months old. In 12 cases the distemper was associated with the disease. The main clinical signs shown by the dogs were respiratory, enteric, neurological. In canine macroscopic, the majority of the injuries were observed in the lungs and liver. Histologically there was fibrinoid necrosis, especially in the lungs, liver, lymph node. The parts that most had cysts or tachyzoites were the lungs, CNS and liver. About the two felines with toxoplasmosis, one was associated with lymphoid leukemia. In both animals had fibrinoid necrosis associated with tachyzoites and / or intralesional cysts in the lungs, liver, lymph nodes and brain in a feline. One dog was positive for *Neospora caninum* and clinical signs presented were neuromuscular and achalasia. The histological lesions were characterized by encephalitis, myelitis and myocarditis necrotic with free cysts and tachyzoites. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* are morphologically similar, however, the neurological signs and myositis are more

common in neosporosis. While *Toxoplasma gondii* is associated with intercurrent infections, *Neospora caninum* appears to be a primary pathogen.

Keywords: Pets, Protozoans, IHQ, Pathology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Pulmão de canino com toxoplasmose. Necrose fibrinoide acentuada, focal (Seta) (HE; obj. 10X).	51
Figura 2- Fígado de canino com toxoplasmose. Necrose fibrinoide, moderada, multifocal com taquizoítos no interior de hepatócitos (Seta) evidenciados no detalhe (HE; obj. 10X e HE; obj. 40X).....	52
Figura 3- Estômago de canino com toxoplasmose. Cistos e taquizoítos livres (Setas) na camada muscular do estômago (HE; obj. 40X).....	53
Figura 4- Encéfalo de canino com toxoplasmose. A) Gliose (Setas) multifocal acentuada (HE; obj. 10X). B) Cisto de toxoplasmose associada à gliose (HE; obj. 40X).	54
Figura 5- Encéfalo de canino com toxoplasmose. Múltiplos cistos (Setas) sem reação inflamatória. (HE; obj. 40X).	55
Figura 6- Linfonodo de canino com toxoplasmose. Necrose massiva (H.E; obj. 4X).....	56
Figura 7- Toxoplasmose em cães. Imuno-histoquímica anti- <i>Toxoplasma gondii</i> com marcação positiva em cistos no encéfalo (Estreptavidina-biotina ligada à peroxidase; obj 40X).....	61
Figura 8- Toxoplasmose em felino. Pulmões com edema, áreas avermelhadas multifocais e finos pontos brancos (Setas) de distribuição aleatória pelo parênquima.	66
Figura 9- Toxoplasmose em felino. Fígado com padrão lobular evidente e múltiplos pontos esbranquiçados (Setas) de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro.	67
Figura 10- Toxoplasmose em felino. A) Pulmões não colabado e com múltiplas áreas brancas entremeadas com áreas avermelhadas. B) Detalhe na superfície de corte.	68

Figura 11- Toxoplasmose em felino. Cisto (Seta) de *Toxoplasma gondii* no pulmão (HE; obj 40 X).69

Figura 12- Toxoplasmose em felino. Fígado com necrose fibrinoide multifocal (Seta) de hepatócitos (HE; obj 10X), com detalhe a necrose fibrinoide (HE; obj 40X).70

Figura 13- Toxoplasmose em felino. Cisto (Seta) de *Toxoplasma gondii* no interior de hepatócitos. (H.E; obj 100X).71

Figura 14- Toxoplasmose em felino. Cisto (Seta) de *Toxoplasma gondii* no encéfalo (H.E; obj 40X).72

Figura 15- Toxoplasmose em felino. Imuno-histoquímica anti-*Toxoplasma gondii* com marcação positiva de cistos (Asteriscos) e taquizoítos (Setas) no pulmão. (Estreptavidina-biotina ligada à peroxidase; obj 40X).73

Figura 16- Neosporose em canino. Megaesôfago. Dilatação esofágica difusa, acentuada (Seta).74

Figura 17- Neosporose em canino. Infiltrado de macrófagos, plasmócitos, necrose de miofibras e tecido fibroso focalmente. No detalhe taquizoítos (Seta) no interior de fibras musculares (H.E; obj 10X e 40X).76

Figura 18- Neosporose em canino. Necrose e fibrose de miofibras, Infiltrado de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e raros neutrófilos multifocal acentuado com taquizoítos no interior de fibras esqueléticas (Seta), evidenciado no detalhe (H.E; obj 10X e 40X).77

Figura 19- Neosporose em canino. Imuno histoquímica anti-*Neospora caninum* com marcação positiva em taquizoítos na musculatura esquelética (Obj 40X).78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Animais positivos para toxoplasmose e neosporose.	44
Tabela 2- Sinais clínicos observados em cães com toxoplasmose associada à cinomose.	47
Tabela 3- Principais lesões macroscópicas de caninos com toxoplasmose associada à cinomose.	49
Tabela 4- Toxoplasmose em cães. Intensidade da necrose fibrinoide observada nos diferentes órgãos.	57
Tabela 5- Toxoplasmose em cães. Diferença da intensidade de necrose fibrinoide entre filhotes e adultos observada em pulmões, fígado e linfonodo.	58
Tabela 6- Toxoplasmose em cães. Diferença da presença de cistos e taquizoítos por órgão entre filhotes e adultos.	59
Tabela 7- Resultados da imuno-histoquímica anti-Toxoplasma gondii em caninos.	62
Tabela 8- Resultados da avaliação histológica e imuno-histoquímica anti-cinomose de caninos com toxoplasmose.	64

LISTAS DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Faixa etária dos animais infectados por toxoplasmose.	45
Gráfico 2- Toxoplasmose em cães. Porcentagem de cistos e taquizoítos nos órgãos acometidos.....	60

LISTAS DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AL	Ausência de lesões
°C	Graus Celsius
CSF	Líquido cefalorraquidiano
C.I.L	Corpúsculo de Inclusão de Lentz
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HE	Hematoxilina e Eosina
IHQ	Imuno-histoquímica
I	Insuficiente
LAPA/CAV	Laboratório de Patologia Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias
N.I	Não informado
<i>N. caninum</i>	<i>Neospora caninum</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
Ph	Potencial hidrogeniônico
SMF	Sistema fagocitário mononuclear
®	Marca registrada
Sub	Submucosa
SNC	Sistema Nervoso Central
<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
µm	Micrômetro
%	Porcentagem
(+)	Leve
(++)	Moderada
(+++)	Acentuada
(++++)	Massiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	24
2.1.1 Ciclo evolutivo	26
2.1.2 Quadro clínico lesional em cães e gatos ..	28
2.1.3 Diagnóstico de toxoplasmose em animais de companhia	30
2.2 NEOSPOROSE.....	31
2.2.1 Etiologia	31
2.2.1 Ciclo de vida da neosporose	33
2.2.2. Transmissão vertical e horizontal	35
2.2.3 Sinais clínicos em cães	36
2.2.4 Diagnóstico de neosporose em cães	37
3 OBJETIVOS.....	41
3.1 OBJETIVO GERAL:	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	41
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 PROTOCOLO DE IMUNO-HISTOQUÍMICA.....	42
5 RESULTADOS.....	44
5.1 LEVANTAMENTOS DE DADOS	44
5.1.1 Toxoplasmose em cães.....	44

5.1.1.1	<i>Descrição dos sinais clínicos.....</i>	45
5.1.1.2	<i>Lesões macroscópicas.....</i>	48
5.1.1.3	<i>Avaliação histopatológica.....</i>	50
5.2	ASSOCIAÇÃO DA CINOMOSE	
	COM TOXOPLASMOSE.....	63
5.2.1	Toxoplasmose em felinos.....	64
5.2.1.1	<i>Sinais clínicos e lesões anatomopatológicas</i> <i>.....</i>	64
5.3	NEOSPOROSE EM UM CANINO.....	73
6	DISCUSSÃO.....	79
7	CONCLUSÃO.....	87
	REFERÊNCIAS.....	89

1 INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são doenças de distribuição mundial, que afetam mamíferos, répteis e aves. No tocante aos animais de companhia *T. gondii* é responsável por doença clínica em cães e gatos, enquanto *N. caninum* acomete somente cães. São protozoários coccídeos, parasitos intracelulares obrigatórios, que pertencem ao filo Apicomplexa (DUBEY; BEATTIE, 1988). Ambos têm ciclos biológicos heterótenos alternando entre hospedeiros definitivos e intermediários (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000; GONDIM et al.; 2004).

Na toxoplasmose a reprodução sexuada do protozoário nos felídeos faz um ciclo enteroepitelial com excreção de oocistos junto às fezes no meio ambiente e a reprodução assexuada ocorre nos tecidos dos hospedeiros intermediários e definitivos (DUBEY et al.; 1998).

Na neosporose, os canídeos também eliminam oocistos nas fezes, contaminando o ambiente (ANDREOTTI, 2001), contudo não está completamente descrito o ciclo biológico (DUBEY; 2003), a rota de transmissão, o desenvolvimento e o modo de distribuição nos tecidos animais (DUBEY; 1999).

Neospora caninum e *Toxoplasma gondii* são morfologicamente semelhantes (DUBEY; LINDSAY, 1993) induzindo lesões similares, especialmente no sistema nervoso central (SNC) (JONES, et. al.; 2000). Para que se possa realizar o diagnóstico diferencial entre toxoplasmose e neosporose os parasitos ou seus antígenos podem ser evidenciados em cortes de tecidos por imuno-histoquímica (IHQ), utilizando-se anticorpos específicos para cada um desses protozoários.

O diagnóstico correto da enfermidade é de suma importância para animais e humanos, pois embora não existam relatos de casos clínicos de neosporose em humanos, a toxoplasmose é a zoonose parasitária de maior importância.

O objetivo desse trabalho foi diagnosticar a toxoplasmose e a neosporose em caninos e felinos no Estado de Santa Catarina por meio de imuno-histoquímica, além de descrever o quadro clínico lesional observado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Toxoplasma gondii*

A toxoplasmose foi descrita pela primeira vez em um roedor, na Tunísia, por Nicolle e Manceaux em 1908, citado por Ferreira & Navarro 1994 e no mesmo ano foi descrita por Splendore, no Brasil em um coelho (apud BRESCIANI et al., 2008), porém, sua ampla distribuição no reino animal foi reconhecida 20 anos depois (JONES et. al.; 2000). Os organismos foram redescobertos por Sabin e Olitsky em 1935, apud Jones et al. (2000), nos cérebros de cobaios que estavam sendo utilizados na propagação de agentes virais da encefalite.

Em caninos a doença foi descrita pela primeira vez em 1910 (MELLO) na Itália. No Brasil o primeiro relato ocorreu em 1911 (CARINI apud FIALHO et al, 2009). Em felino a doença foi diagnosticada pela primeira vez nos Estados Unidos em 1942 (DUBEY, 2008).

Este protozoário pertence ao filo Apicomplexa, Ordem *Eucoccidii*, Família *Sarcocystidae* e Subfamília *Toxoplasmatinae*, Gênero *Toxoplasma* (LEVINE et al., 1980), espécie *T. gondii* (DUBEY e BEATTIE, 1988; SIBLEY e BOOTHRYD, 1992; TENTER e JOHNSON, 1997).

A toxoplasmose é uma doença dos felídeos, os mesmos são os únicos hospedeiros definitivos, porém, todos os animais homeotérmicos servem como hospedeiros intermediários, inclusive seres humanos (SWANGO et al.; 1992; MARTINS & VIANA, 1998; HILL et al., 2005).

Toxoplasma gondii apresenta três formas infectantes (GERMANO, 1985): taquizoítos, bradizoítos e oocistos. O

taquizoíto, encontrado na fase aguda da infecção, foi à primeira forma descrita, sendo que, seu aspecto morfológico, em forma de arco (*toxos*=arco) deu nome ao gênero. Esse apresenta a forma de banana ou meia-lua, uma das extremidades mais afilada e outra arredondada, o núcleo central, medindo cerca de 2x6 μm . Apresenta-se móvel e de multiplicação rápida (*tachos*=rápido) que pode ser encontrada dentro do vacúolo parasitóforo de várias células como as células dos sistemas fagocitário mononuclear (SFM), hepáticas, pulmonares, nervosas, nas camadas submucosas e musculares, além de líquidos orgânicos e excreções. Nestes tecidos se multiplicam intracelularmente, porém se a multiplicação não é intensa, os mesmos, causam lise celular e desencadeiam reação inflamatória local (KAWAZOE, 2005). Os taquizoítos são pouco resistentes à ação do suco gástrico no qual são destruídos em pouco tempo (KAWAZOE, 2005).

Os bradizoítos são observados normalmente na fase crônica da infecção, podem ser encontrados em vários tecidos como os musculares esqueléticos e cardíacos, nervoso e retina. Essa forma é encontrada dentro do vacúolo parasitóforo de uma célula, onde a membrana forma a cápsula do cisto tecidual e dentro desses os bradizoítos se multiplicam lentamente (*brady*=lento). A parede desse cisto é resistente e elástica, desta forma, os bradizoítos, ficam protegidos da ação de mecanismos imunológicos dos hospedeiros. O tamanho do cisto pode variar, pois vai depender da célula parasitada e do número de bradizoítos no seu interior podendo atingir até 200 μm . São muito resistentes à tripsina e à pepsina e podem permanecer viáveis por longos anos (KAWAZOE, 2005).

Os oocistos são produzidos nas células intestinais de felinos não imunes e eliminados imaturos junto às fezes, possui parede dupla sendo resistente às condições do meio ambiente. São estruturas esféricas, que medem aproximadamente 12,5 x 11,0 μm e após a esporulação no meio ambiente contêm dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada (KAWAZOE,

2005). Os cistos sobrevivem ao frio durante várias semanas, porém não resistem ao congelamento; quando submetidos a temperaturas superiores a 66°C são destruídos (FORTES, 2004).

2. 1.1 Ciclo evolutivo

O ciclo evolutivo do *T. gondii* é heteroxeno facultativo e os hospedeiros intermediários são todos os animais de sangue quente, incluindo os seres humanos. Já os hospedeiros definitivos, são todos os felídeos, destacando-se principalmente os gatos domésticos (TENTER et al., 2001). O ciclo biológico desenvolve-se em duas fases distintas: a fase sexuada que ocorre somente nas células epiteliais do intestino de gatos jovens e outros felídeos não imunes (NEVES, et al., 2005; KAWAZOE, 2005) e a fase assexuada ou coccidiana, nos linfonodos e tecidos de vários hospedeiros, incluindo os gatos jovens e não imunes (NEVES, 2003; KAWAZOE, 2005)

Os hospedeiros definitivos se infectam ao ingerirem tecidos de animais contendo taquizoítos ou bradizoítos (MENEZES, 2010; DUBEY, 1998).

Os taquizoítos são eliminados ao chegarem no estômago, porém, os mesmos, possuem a capacidade de se aderirem e penetrarem nas células da mucosa. Os bradizoítos e oocistos passam pelo estômago e liberam os bradizoítos e os esporozoítos no intestino (NEVES, 2003). Os esporozoítos, bradizoítos ou taquizoítos ao penetrarem nas células do epitélio intestinal do gato doméstico se multiplicam, originando os merozoítos, que, dentro do vacúolo parasitóforo da célula é o esquizonte maduro (KAWAZOE, 2005).

Quando ocorre o rompimento da célula parasitada, os merozoítos são liberados e penetrarão em novas células epiteliais se transformando em formas sexuadas masculinas ou femininas que fecundarão e resultarão no zigoto, realizando seu ciclo sexuado (KAWAZOE, 2005; REY, 2001). O zigoto se separará da parede cística resultando o oocisto e a célula

epitelial se romperá liberando o oocisto imaturo que será excretado nas fezes (FORTES, 2004).

A maturação do oocisto no meio ambiente ocorre em um período de aproximadamente cinco dias depois de eliminado pelo hospedeiro definitivo (REY, 2001; FORTES, 2004). Em condições ambientais favoráveis com temperaturas entre 20° a 30°C e com oxigenação, os oocistos esporulam entre 1 a 3 dias, tornando-se infectantes para os hospedeiros intermediários (FRENKEL, 1976; KAWAZOE, 2005), sendo essa a principal via de transmissão para outros animais (MENEZES, 2010; LANGONI, 2006; LINDSAY et al., 2003). Os felinos podem eliminar por meio das fezes, centenas de milhares ou milhões de oocistos (SWANGO; BANHEMPER e KONG, 1992) e mesmo em condições não adequadas para o seu desenvolvimento, os oocistos podem permanecer viáveis por aproximadamente dezoito meses no ambiente (LINDSAY et al., 2003).

O ciclo evolutivo no hospedeiro intermediário é extra intestinal e idêntico para todos, não dependendo do estágio de *T. gondii* ingerido (DUBEY, 2006). Ocorre a liberação de esporozoítos no trato digestivo, que, por meio das vias linfáticas e sanguínea, chegam ao fígado, sistema nervoso central e outros órgãos. À medida que atingem as células de tecidos extra intestinais, formam vacúolos parasitóforos e se dividem de forma assexuada. Ao se dividirem, formam novos taquizoítos que se agregam dentro da célula parasitada e quando há um acúmulo de taquizoítos, entre 8 a 16, rompem-se as células e outras são infectadas (MENEZES, 2010; URQHATT et al, 1996, 1990; DUBEY, 2004, 2010, NEVES et al, 2005). A multiplicação dos taquizoítos é extremamente rápida, caracterizando a forma aguda da doença (URQHATT et al, 1990).

Em consequência da resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos diminuem sua velocidade de reprodução formando cistos portadores de bradizoítos que assim são denominados

devido à endodiogenia e o crescimento lento (MENEZES, 2010, URQHATT et al, 1990).

Em hospedeiros imunossuprimidos o cisto se rompe liberando os bradizoítos que se tornam ativos e prosseguem com as características invasivas dos taquizoítos (URQHATT et al, 1996, 1990; DUBEY, 2004,2010; NEVES et al, 2005).

2.1.2 Quadro clínico lesional em cães e gatos

As manifestações clínicas da toxoplasmose em cães e gatos podem ser muito variadas e envolvem vários órgãos, tecidos e sistemas como o gastrointestinal, linfático, esplênico, hepático, pulmonar, osteomuscular, cardíaco, ocular e sistema nervoso central (DUBEY, 1977; DUBEY; LAPPIN, 1998). Ainda que uma grande quantidade dos animais de companhia possam ser sorologicamente positivos para toxoplasmose, poucos destes desenvolvem sinais clínicos da doença (LAPPIN, 2004; DUBEY; LAPPIN, 2006).

A amplitude e a severidade dos sinais clínicos apresentados dependem da localização e grau de lesão tecidual, decorrente da necrose determinada pelo caráter intracelular do parasito (CORRÊA; CORRÊA, 1992; DUBEY; LAPPIN, 1998).

Em cães, os sinais clínicos são observados, com certa frequência, em jovens com menos de um ano de idade. Os sinais caracterizam-se por ataxia, diarreia, pneumonia e sinais neurológicos (convulsão, incoordenação motora, síndrome vestibular, encefalite, entre outros). Infecções decorrentes da ingestão de cistos teciduais ou oocistos ocasionam diarreia e vômito devido à necrose determinada pelos taquizoítos no intestino e nos órgãos linfoides associados. Após, o protozoário dissemina-se por via hemática e/ou linfática, gerando a necrose focal em diversos órgãos (DUBEY; LAPPIN, 1998).

A toxoplasmose respiratória em cães com frequência está associada ao vírus da cinomose ou com outras infecções como a erliquiose ou terapia imunossupressora facilitando o

desenvolvimento e a proliferação do *T. gondii* (DUBEY et al., 2003, 2006; DUBEY; LAPPIN, 1998).

Outros sinais clínicos apresentados em cães são alterações oftálmicas como uveíte anterior, iridociclite, hiperplasia do epitélio ciliar, retinite, coroidite, miosite extraocular, esclerite, episclerite e neurite óptica (ABREU et al., 1999; DUBEY; LAPPIN, 1998; MARTIN; STILES, 1998). Porém, são raros os que adoecem e morrem (KÜHN et al., 1972; DUBEY; 1985), mas a mortalidade é mais elevada em neonatos e em animais imunossuprimidos (BIRCHARD e SHERDING, 2003).

Apesar dos felinos se infectarem com frequência, a forma clínica é rara (SIMPSON et al., 2005). A apresentação clínica da toxoplasmose em felinos é geralmente polissistêmica, onde a uveíte e a febre são os achados mais comuns (LAPPIN, 2002, 2004). Na forma generalizada da toxoplasmose, os sinais clínicos apresentados são a hipertermia de forma intermitente, dispneia, diarreia, vômito, pneumonia e a linfadenopatia (DUBEY et al., 2003, 2006). As lesões ocasionadas pelo agente nos linfonodos e baço são a causa da imunossupressão (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Já os sinais neuromusculares são caracterizados por radicomielite e miosite, que ocasionam a paresia, paralisias progressivas e convulsões (DUBEY et al., 2003, 2006). Essas lesões musculares, ocasionadas por *T. gondii* determinarão a hiperestesia à palpação, marcha rígida, claudicação e também podem ocasionar arritmias e insuficiência cardíaca devido ao envolvimento miocárdico (DUBEY; LAPPIN, 1998).

Na necropsia os animais de companhia podem apresentar focos necróticos puntiformes no sistema nervoso central (SNC), pulmões, fígado, e podem também apresentar linfonodomegalia, esplenomegalia e pulmões avermelhados (DAVIDSON, 2000, COSTA et al. 1978). No SNC há áreas de malácia e hemorragia (GRAÇA et al., 2010); hiperemia e edema (COSTA et al. 1978) também foram relatados.

Na histopatologia há em fígado, baço, pulmão e rim, áreas multifocais de necrose com infiltrado de linfócitos, histiócitos e neutrófilos, associados a cistos do parasita (COSTA et al. 1978). No SNC, lesões agudas apresentam cistos e taquizoítos livres nas áreas de malácia com gliose, células *gitter* e meningoencefalomielite mononuclear e polimorfonuclear com manguitos perivascularres. Quando a lesão é crônica, a mesma evolui para infiltrado inflamatório mononuclear, diminuindo a necrose, edema tecidual, ocasionando o aumento dos cistos e por consequência reduzindo os parasitos livres, e é nesse período que a reação inflamatória torna-se granulomatosa (GRAÇA et al., 2010).

2.1.3 Diagnóstico de toxoplasmose em animais de companhia

O diagnóstico de toxoplasmose pode ser realizado por meio de sorologia, parasitologia, citologia e histologia, ou pela associação entre esses métodos. O diagnóstico laboratorial é de suma importância, pois a doença clínica é facilmente confundida com outras enfermidades infecciosas como viroses, clamidioses, leptospirose, brucelose, cinomose, sarcocistose, neosporose, entre outras. (VIDOTTO, 1992).

Soroprevalência de toxoplasmose em gatos no Brasil foram realizadas nos estados do Rio Grande do Sul (24%) (MENDEZ et al.; 1983), Paraná (73%) (GARCIA et al.; 1999), São Paulo (50,8%) (SOGORB et al.; 1972), Rio de Janeiro (19,5% e 2,55%) (NETTO et al.; 2003), Amazonas (81%) (FERRARONI et al. 1980, apud FRENKEL, 1997) e Rondônia (90,63%) (FERRARONI & MARZOCHI 1978, apud VIDOTTO, 1992). Em cães há estudos de soroprevalência nos Estados de Goiás (57,1%) (FERNANDES e BARBOSA, 1972), Rondônia (76,40%) (CÂNÓN-FRANCO et al.; 2004), Minas Gerais (52,7%) (DURAN et al.; 1997), Mato Grosso

(35%) (SOUZA et al.; 2001), Pernambuco (46,60%) (COELHO, KOBAYASHI & CARVALHO Jr. 2003), Amapá (68,43%) (FERRARONI & MARZOCHI 1978, apud FRENKEL, 1997), Paraíba (45,10%) (RAGOSO et al.; 2004), Bahia (63,55%) (BARBOSA et al.; 2003) e Santa Catarina (22,3%) (MOURA et al.; 2009).

No exame anatomopatológico o protozoário pode ser evidenciado em cortes de tecidos com coloração de hematoxilina e eosina. O diagnóstico definitivo pode ser realizado através da técnica de imuno-histoquímica, utilizando anticorpo específico para *T. gondii*.

Em Santa Catarina há relatos de infecção por *T. gondii* apenas em primatas (CASAGRANDE et al.; 2013), não havendo relatos clínicos em caninos e felinos.

2.2 NEOSPOROSE

2.2.1 Etiologia

A neosporose é uma doença de distribuição mundial e há poucas décadas vem sendo estudada. Surgiu como uma doença grave que causa aborto e morte perinatal, acometendo principalmente bovinos, além de equinos, ovinos, caprinos e cervídeos (DUBEY, 1998; DUBEY, 2003). Em cães a doença foi confirmada por Bjerkäs e Dubey (1991), em um estudo retrospectivo de filhotes que adoeceram em 1984 na Noruega, onde os mesmos apresentaram sinais clínicos semelhantes a *T. gondii*. Essa ninhada de cães da raça Boxer, manifestaram meningoencefalite e miosite. Na microscopia óptica, o protozoário era semelhante ao *T. gondii*, porém, o mesmo não reagia a imuno-histoquímica com os anticorpos anti-*T. gondii* (DUBEY, 1996).

Foram realizados estudos ultraestruturais desse parasito, pois, esse protozoário era diferente dos demais (DUBEY,

1996). Os cistos encontrados no SNC, apresentaram uma parede grossa, além de taquizoítos livres. A partir disso, Dubey et al. (1988) relataram o novo gênero *Neospora*, espécie *N. caninum*.

Depois de seis meses da descrição de *N. caninum*, o protozoário foi cultivado em tecidos de caninos com paresia em membros pélvicos, mas não foi diferenciado de *T. gondii*. Porém, quando foi inoculado em camundongos com cultivo celular infectado, pode-se mensurar a parede cística e logo após o anti-soro contra *N. caninum*, foi produzido em coelhos. Foi realizado então um teste para IHQ para que se pudesse desagregar *N. caninum* e *T. gondii* (DUBEY et al., 1988; DUBEY et al., 1988; LINDSAY e DUBEY, 1989; DUBEY, 1996). Em 1988, nos Estados Unidos, foram constatadas diferenças estruturais e histopatológicas entre *T. gondii* e *N. caninum* e que a neosporose causava em cães uma forma clínica mais grave que *T. gondii* (DUBEY e LINDAY, 1993).

Exames de amostras teciduais, como a biópsia, revelaram que *N. caninum* já acometia cães com sinais neurológicos desde a década de 50 (DUBEY e LINDAY, 1993). Farias (2002), cita que esse não é um agente patológico novo, sendo, provavelmente diagnosticado até o final da década de 80 como *T. gondii*. Estudos retrospectivos histológicos e padronização de métodos de diagnóstico foram desenvolvidos para possibilitar o aprofundamento de estudos epidemiológicos sobre *N. caninum* (PARÉ; HIETALA; THURMOND, 1995; BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

Esse protozoário é um parasito intracelular obrigatório, formador de cisto (FARIAS, 2002). *Neospora* é um protozoário que pertence ao Filo *Apicomplexa*, classe *Sporozoea*, ordem *Eucoccidiida* e família *Sarcocystidae* (DUBEY et al., 1988). No gênero *Neospora*, apenas duas espécies são conhecidas e são *N. caninum* (DUBEY et al., 1988), isolado de cérebro de cão, e *N. hughesi* (MARSH et al., 1998; DUBEY et al., 2001),

isolado de cérebro e medula espinhal de equinos (MARSH et al., 1998).

Não há relatos de casos da doença em seres humanos, embora já tenham sido detectados anticorpos para *N. caninum* em pacientes aidéticos (LOBATO, 2006). Assim como não há relatos da doença clínica espontânea em felinos, embora a infecção experimental tenha sido reproduzida (DUBEY, e LINDSAY, 1989) e haja relatos de sorologia positiva (BRAGA, 2010).

Em cães, a neosporose é responsável por uma doença neuromuscular fatal (ANDREOTTI et al.; 2006). Apesar da semelhança com a toxoplasmose, os sinais neurológicos e a miosite são mais frequentes na neosporose. Enquanto *T. gondii* está associado com infecções intercorrentes, *N. caninum* parece ser um patógeno primário (LECOUTEUR; GRANDY, 2000).

2.2.1 Ciclo de vida da neosporose

Como há poucos estudos envolvendo os oocistos, parte do ciclo de vida do *N. caninum* é desconhecido. Não se sabe a respeito da formação dos estágios enteroepiteliais que precedem a formação do oocisto e se a produção dos mesmos é iniciada em cães após a ingestão de oocistos esporulados (McALLISTER et al., 1998; DUBEY et al., 2002).

Os hospedeiros definitivos são o cão (*Canis familiaris*) (McALLISTER et al., 1998), o coiote (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004), o dingo australiano (*Canis lupus dingo*) (KING et al., 2010) e o lobo-cinzento (*Canis lupus*) (DUBEY et al., 2011). Estes, tornam-se infectados ao ingerirem tecidos contendo bradizoítos (DIJKSTRA et al., 2001; McALLISTER et al., 1998) e eliminam oocistos não esporulados nas fezes, onde, no meio ambiente em condições adequadas se tornam esporulados (DUBEY et al., 2002).

O cão, além de desempenhar o papel fundamental de hospedeiro definitivo também é hospedeiro intermediário.

Ocorre um ciclo assexual, antes do sexual no intestino do cão, mas é desconhecido o período de tempo que os oocistos são excretados. Os mesmos esporulam no ambiente para que se tornem infectantes (FORTES, 2004), porém, ainda é não se sabe a cerca da sobrevivência desses oocistos no ambiente (DUBEY, 1999).

Neospora caninum possui três formas de ciclo de vida já identificadas; os taquizoítos, os cistos com bradizoítos e os oocistos (esporozoítas), sendo que, os taquizoítos e bradizoítos são estágios intracelulares encontrados nos hospedeiros intermediários (PLUGGE, 2008; DUBEY, 2003).

Quando os hospedeiros intermediários ingerem os oocistos, os esporozoítos infectantes são liberados no trato intestinal. Os esporozoítos invadem as células e se transformam em taquizoítos. Esses se multiplicam e podem chegar até 100 em uma simples célula (FORTES, 2004). Entretanto, *N. caninum* não se desenvolve dentro do vacúolo parasitóforo da célula hospedeira (ZACHARY, 2009).

Os taquizoítas são responsáveis pela fase aguda, possuem a forma ovoide ou circular, medem aproximadamente 3 a 7 x 5 μm e isso dependerá do estágio da divisão. (HEMPHILL et al., 1996). São encontrados em vários tecidos, no citoplasma das células neurais, macrófagos, fibroblastos, células vasculares endoteliais, miócitos, células epiteliais dos túbulos renais e hepatócitos (DUBEY et al., 1988; DUBEY 1993; BJERKAS; PRESTUS, 1989). As células de hospedeiros infectadas podem conter vacúolos parasitários com até aproximadamente 100 taquizoítas por plano ou corte histológico, podendo ser localizados mais de um vacúolo nestas células (DUBEY et al., 1988).

Bradizoítas dividem-se de forma lenta e localizam-se no interior dos cistos, envoltos por uma grossa parede de até 4 μm (SPEER et al., 1999). Bradizoítos de estágios latentes, medem aproximadamente 6 a 8x1 a 2 μm ; os bradizoítos de cistos teciduais são resistentes a solução ácida de pepsina e podem

sobreviver em torno de 14 dias em temperatura de aproximadamente 4°C, porém, tornam-se não infectantes em 24 horas a uma temperatura de -20°C (FORTES, 2004, GONÇALEZ, 2010).

Os oocistos de *N. caninum* se apresentam na forma esférica medindo aproximadamente de 10 a 11 µm (McALLISTER et al., 1998). Sua parede é lisa e incolor com espessura de 0,6 a 0,8 µm. Quando ocorre a esporulação, possuem dois esporocistos elipsoidais com 7,4 a 9,4 x 5,6 a 6,4 µm (LINDSAY et al., 1999; DUBEY et al., 2002) e cada esporocisto contém quatro esporozoítos, com forma alongada, medindo 5,8 a 7,0 por 1,8 a 2,2 µm e sua morfologia é semelhante ao bradizoíto e taquizoíto (DUBEY et al., 2002).

Apesar do ciclo intestinal, que compreende a fase sexuada da evolução de *N. caninum*, não esteja descrito, os caninos, após ingerirem cistos teciduais, eliminam oocistos não esporulados nas fezes (McALLISTER et al.; 1998).

Nas espécies pertencentes à subfamília *Toxoplasmatinae*, esse ciclo intestinal possui o início com a fase assexuada de multiplicação dos bradizoítos nas células epiteliais do intestino do hospedeiro definitivo. Ocorre multiplicação por endopoligenia e, após, ocorre o ciclo sexuado, com a formação de micro e macrogametas. Após a fecundação dos macrogametas, os oocistos são formados (MUGRIDGE et al.; 1999). Acredita-se que com *N. caninum* o ciclo deve ser semelhante (FARIAS, 2002).

2.2.2. Transmissão vertical e horizontal

A transmissão vertical (transplacentária) tem sido demonstrada em vários hospedeiros (bovinos, ovinos, caprinos, caninos, felinos, suínos, macacos e camundongos) e é o principal modo de transmissão em bovinos (TREES; WILLIAMS, 2005). A infecção vertical pode ocorrer quando os taquizoítos são transmitidos de um animal infectado para

seu feto durante a gestação (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Em cadelas infectadas subclínicamente, ocorre a transmissão desse protozoário para os seus fetos e ninhadas sucessivas. Não existem evidências de que haja predisposição racial ou de sexo para a ocorrência de *N. caninum* (DUBEY E LINDSAY, 1996).

A transmissão horizontal (pós-natal) ocorre pela ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos liberados pelos cães, sobretudo em casos de surtos de abortos. Foi constatada a associação entre soroprevalência e abortos dos bovinos com a presença de cães na propriedade, pode aumentar a prevalência positivos em ambas as espécies (PARÉ, et al., 1998; BARTELS et al.; WOUDA et al.,1999). Cães de propriedades rurais apresentam maior prevalência de infecção do que os de área urbana WOUDA et al.,1999). Isso se deve a possibilidade dos mesmos se infectarem através da ingestão de alimentos contaminados de origem bovina, como fetos, membranas fetais e fluidos (FARIAS, 2002).

Cães infectados naturalmente podem eliminar oocistos durante um longo período em determinadas circunstâncias, ou eliminá-los após algum tempo. No entanto, estudos mais detalhados são necessários para o entendimento da dinâmica de frequência e intensidade com que os oocistos são excretados no ambiente pelo hospedeiro definitivo (PLUGGE, 2008).

2.2.3 Sinais clínicos em cães

A maioria dos casos clínicos ocorre em filhotes que foram infectados congenitamente (DUBEY et al., 1990). No Brasil a forma clínica da neosporose foi descrita apenas em um canino da raça Collie que apresentou um quadro clínico de incoordenação e paresia dos membros, no estado da Bahia (GONDIM et al., 2001)

Cães infectados pelo protozoário apresentam uma paralisia ascendente, com os membros pélvicos geralmente mais afetados, podendo ocorrer hiperextensão rígida ou flácida, decorrente da poliradiculoneurite e miosite causadas pela infecção (DUBEY et al; 1988). Podem ainda ocorrer outras disfunções como a dificuldade de deglutição, paralisia do maxilar, cegueira, convulsões, incontinência urinária e fecal, flacidez e atrofia muscular e deficiência cardíaca (FORTES, 2004; JARDINE e DUBEY, 1992).

Em cães adultos a apresentação é mais variada, além dos sinais neuromusculares, pode ocorrer dermatite piogranulomatosa, miocardite e pneumonia. Os cães podem sobreviver durante meses com paralisia progressiva, meningoencefalite, insuficiência cardíaca, complicações pulmonares e às vezes os animais precisam ser eutanasiados (BARBER, 1998).

2.2.4 Diagnóstico de neosporose em cães

O diagnóstico clínico em caninos é difícil, pois pode-se confundir o quadro nervoso com traumatismos, doença do disco intervertebral, cinomose, raiva, toxoplasmose, entre outros (FARIAS, 2002). Dessa forma, o diagnóstico da neosporose deve ser realizado de forma criteriosa e completa, incluindo uma excelente anamnese, histórico do animal, sinais clínicos, análises laboratoriais e exame anatomopatológico (PUGGLE, 2008).

O diagnóstico laboratorial é realizado por meio de exames sorológicos e parasitológicos (HEMPHILL et al., 2000). Exames hematológicos e bioquímicos não são suficientes para confirmar o diagnóstico dessa enfermidade (DUBEY e LINDSAY, 1996; BARBER 1998). Já a biópsia da musculatura é considerada valiosa para o diagnóstico de neosporose (DUBEY et al., 1998). Taquizoítas podem ser visualizados em tecidos, fluidos ou amostras citopatológicas e

devem ser diferenciados de *T. gondii* (DUBEY e LAPPIN, 2006), pois os taquizoítas de ambos são estruturalmente similares. Entretanto, Dubey et al. (1998), citam que os mesmos podem ser diferenciados pela espessura da parede dos cistos teciduais, sendo que *N. caninum* possui a parede do cisto mais espessa do que a de *T. gondii* (ZACHARY, 2009).

Outro diagnóstico que pode auxiliar na identificação dessa enfermidade é a análise do líquido cefalorraquidiano (CSF). A contagem de células inflamatórias indica uma condição inflamatória ou infecciosa e a visualização de taquizoítas pode sugerir encefalomielite protozoária (BARBER, 1998). Pode-se também detectar bradizoítos no líquido (FARIAS 2002).

Já no exame coprológico de cães e coiotes, é identificado a eliminação dos oocistos pelo hospedeiro definitivo, mas o exame parasitológico é difícil, pois não se sabe qual é a frequência e intensidade de excreção de oocistos no ambiente, além da impossibilidade de distinção entre os oocistos de *N. caninum* e *Hammondia heydorni* (HILL et al., 2001; SLAPETA et al., 2002). Nestes casos, a técnica de Reação em cadeia da polimerase PCR é de suma importância para detecção do DNA do protozoário nas fezes do hospedeiro definitivo e também a confirmação do diagnóstico (HILL et al., 2001; SLAPETA et al., 2002).

O exame sorológico anti- *N.caninum* é atualmente o diagnóstico mais utilizado para que se possam identificar inicialmente casos suspeitos de neosporose. Entretanto, a presença de anticorpos isoladamente não é considerado diagnóstico para a enfermidade, já que a maioria dos cães soropositivos permanece saudável (HILL et al., 2001, GONDIM et al., 2005).

No Brasil, a soroprevalência de *N. caninum* foi realizada em cães nos estados de Minas Gerais (4,29%) (CABRAL et al.; 1999), São Paulo (21,92%) (REZENDE et al.; 1999), Paraná (21,64%) (SOUZA et al.; 2002), Bahia

(13,33%) (JESUS et al.; 2002), Rondônia (8,30%) (CÂNÓN-FRANCO et al.; 2003), Pernambuco (8,40%) (AZEVEDO et al.; apud, GENNARI, 2004) e no Paraná, apenas 1 canino (DIAMANTE et. al.; 2014). Em gatos há estudo sorológico no Maranhão (24,5%) (BRAGA et al.; 2010).

O diagnóstico através da Reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido muito útil nas pesquisas com a neosporose, pois atua na detecção do DNA do parasito nos tecidos do hospedeiro intermediário e nas fezes do hospedeiro definitivo (HILL et al., 2001, GONDIM et al., 2005), sendo considerada o exame diagnóstico mais específico de neosporose disponível (PUGGLE, 2008). A PCR se tornou o exame de escolha para detecção de patógenos em estudos clínicos e epidemiológicos e é um dos mais específicos métodos diagnósticos com excelente sensibilidade (HURCOVÁ et al., 2006).

Já na necropsia os cães podem apresentar lesões inespecíficas, como áreas de necrose no SNC, granulomas em vísceras, estrias esbranquiçadas nos músculos e megaesôfago (BARBER, 1998). Graça et al. (2010) relatam que lesões à necropsia incluem necrose hemorrágica em órgãos afetados e em casos severos há atrofia e fibrose musculares. Quando as lesões são pré-agudas no SNC, podem existir focos hemorrágicos e necrose distribuída em um padrão vascular. Apresentam na superfície de corte uma textura granular amarelo-amarronzada e cinza. Em certos casos, a substância branca perivascular pode ser mais afetada. Nas lesões crônicas há grandes áreas granulares amarelo- amarronzadas a cinzas e que na maioria das vezes torna a substância branca indistinguível da cinzenta (ZACHARY, 2009).

A histopatologia deve ser realizada principalmente em amostras do SNC, pois serão visualizadas lesões sugestivas de *N. caninum*, além de taquizoítos ou cistos teciduais. Neosporose caracteriza-se por encefalite não supurativa, com diferentes graus de degeneração neuronal e gliose multifocal,

além de polirradiculoneurite mononuclear com focos de neutrófilos e eosinófilos (DUBEY et al., 2005; GRAÇA et al., 2010). Quando ocorre ruptura dos cistos no SNC, ocorre o desenvolvimento de granulomas (GRAÇA et al., 2010). Miocardites, miosites e hepatites não supurativas também podem ser observadas. Quando presente, a miosite é mais frequente em membros pélvicos (DUBEY e LINDSAY, 1996).

Farias (2002), menciona que no diagnóstico *post mortem* é fundamental o uso da IHQ para detectar taquizoítos e cistos nos tecidos. Essa técnica revela a presença do protozoário nos cortes de tecidos, por meio do uso de anticorpos anti-*Neospora* nas amostras analisadas. A identificação de taquizoítos e/ou cistos tem sido relatada a partir de cérebro, medula espinhal, coração, fígado, pulmão, rim, esôfago e retina (DUBEY et al., 1988).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL:

- Diagnosticar, através da imuno-histoquímica, casos de toxoplasmose e neosporose em cães e gatos.
- Fazer um estudo retrospectivo dos casos de toxoplasmose e neosporose.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Fazer um levantamento dos casos de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães e gatos nos arquivos do LAPA-CAV/UDESC no período de 1988 a 2015.
- Descrever o quadro clínico e lesional da toxoplasmose e neosporose em cães e gatos.
- Fazer o diagnóstico por meio de IHQ das duas enfermidades.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo utilizando os arquivos do Laboratório de Patologia Animal LAPA/CAV/UEDESC no período de 1988 a 2015, dos casos diagnosticados e/ou suspeitos de infecção por *Toxoplasma gondii* e/ou *Neospora caninum* em caninos e felinos.

Foram selecionados casos contendo na descrição histológica, cortes histológicos de parasitos morfologicamente semelhantes a *Toxoplasma gondii* e/ou casos em que o parasito não era observado, mas havia necrose fibrinoide nos pulmões, SNC, fígado, baço e linfonodo.

Os blocos obtidos foram reprocessados. Realizou-se cortes histológicos de 5µm os quais foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Os dados clínicos e de necropsias obtidos através das fichas de registro, bem como as avaliações histológicas foram compiladas. Conforme a intensidade e distribuição da necrose fibrinoide essa foi classificada em lesões necróticas leve (+), moderada (++), acentuada (+++) e necroses massivas (++++).

4.1 PROTOCOLO DE IMUNO-HISTOQUÍMICA

Em todos os casos suspeitos de toxoplasmose e/ou neosporose realizou-se IHQ. Os fragmentos dos órgãos selecionados foram submetidos à técnica de IHQ pelo método da estreptavidina-biotina-peroxidase. O bloqueio da atividade da peroxidase endógena foi realizado com a incubação dos cortes dos tecidos em solução a 3% de peróxido de hidrogênio (30 vol.) em metanol por 20 minutos. Para a recuperação antigênica utilizou-se tripsina 0,1% por 10 minutos a 37°C e tampão citrato pH 6 por 5 minutos em micro-ondas (dois ciclos). Os anticorpos policlonais anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* (VRMD®, PO Box 502, Pullman, WA 99163 USA) foram diluídos em 1:1000 em solução salina tamponada com

fosfato (PBS). As lâminas foram incubadas a 37°C por 1 hora com anticorpo primário e, após esta etapa, os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotinilado ligado a estreptavidina-peroxidase (kit LSAB-HRP, K0690, Dako Cytomation®) por 20 minutos cada etapa. O cromógeno utilizado para a revelação foi 3,3'-diaminobenzidina (DAB, K3468, Dako Cytomation®). Para a contra-coloração foi utilizada a hematoxilina de Harris. Como controle positivo foi utilizado um pulmão de gato com toxoplasmose e um feto bovino com neosporose. Os cães que apresentam algumas das lesões características de cinomose, que são pústulas abdominais, secreção ocular e pneumonia difusa ou corpúsculo de Lentz e desmielinização no SNC foram submetidos IHQ de cinomose. Fragmentos dos órgãos selecionados foram submetidos à IHQ pelo método streptavidina-biotina-fosfatase alcalina. A recuperação antigênica foi realizada por calor com 3 ciclos de 5 minutos no micro-ondas em tampão citrato pH 6. O anticorpo anti-cinomose (Serotec®) foi diluído 1:400 em PBS. As lâminas foram incubadas *overnight* na geladeira, após esta etapa, incubados com anticorpo secundário biotinilado ligado a fosfatase alcalina (Kit LSAB-AP Dako Cytomation®) por 20 minutos cada etapa. O cromógeno utilizado para a revelação foi o Permanent Red (Dako Cytomation®) durante 15 minutos e hematoxilina de Harris para contracorar. Como controle positivo foi utilizado um estômago de cão com cinomose.

5 RESULTADOS

5.1 LEVANTAMENTOS DE DADOS

Entre 1988 a 2015, foram realizados 15.807 exames anatomopatológicos de caninos e felinos no LAPA/CAV/UEDESC. Desses, 13.961 (88,3%) eram caninos, sendo 6.708 (48,04%) fêmeas, 4.901 (35,1%) machos e 2.352 (16,8%) não tiveram o sexo informado. Já os felinos, tiveram o total de 1.846 casos, sendo que, 789 (42,7%) eram fêmeas, 704 (38,1%) machos e 353 (19,1%) o sexo não foi informado. Dos 13.961 cães, 26 foram diagnosticados com infecção por protozoário sugestivo de toxoplasmose ou neosporose. Já os felinos, de 1.846 casos (11,6%), apenas dois foram diagnosticados com toxoplasmose. O número de casos positivos para toxoplasmose e neosporose na coloração H.E e na imunohistoquímica (IHQ) estão relacionados na tabela 1.

Tabela 1- Animais positivos para toxoplasmose e neosporose.

Espécie	Exames positivos na histologia	Positivos na IHQ	
		Toxoplasmose	Neosporose
Caninos	26	22	1
Felinos	2	2	-
Total	28	24	1

H.E= hematoxilina e eosina; IHQ=imuno-histoquímica;

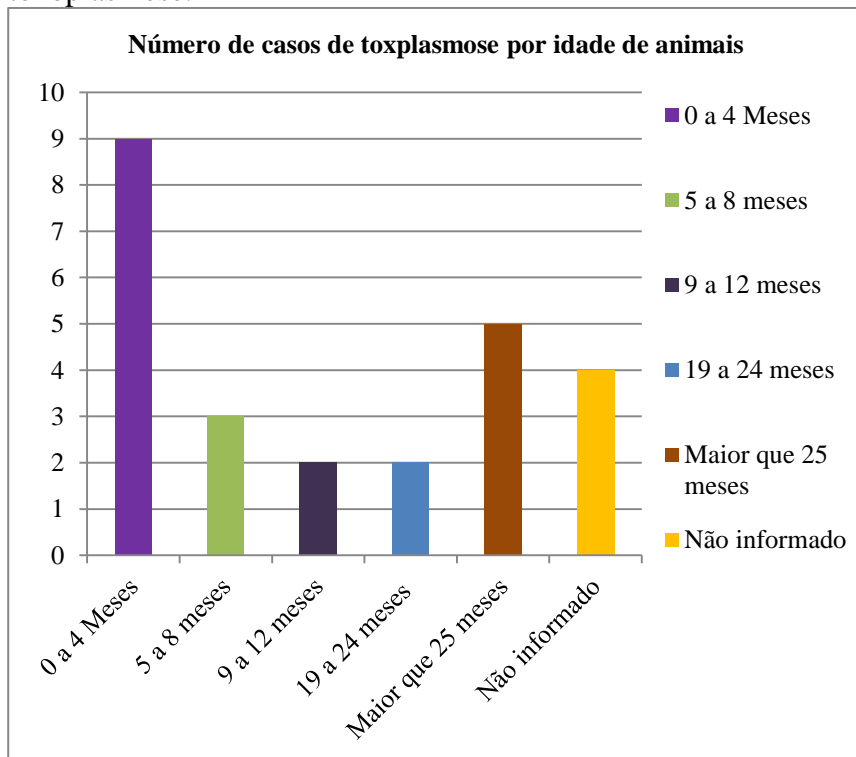
Fonte: produção do próprio autor, 2015.

5.1.1 Toxoplasmose em cães

A idade informada dos cães com toxoplasmose variou entre 2 meses a 8 anos, com 9 casos variando entre 0 a 4

meses (Gráfico 1), sendo 9 fêmeas, 15 machos e 1 o sexo não foi informado. Dos 25 casos, 12 (48%) a cinomose estava associada à toxoplasmose.

Gráfico 1- Faixa etária dos animais infectados por toxoplasmose.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

5.1.1.1 Descrição dos sinais clínicos

Conforme demonstrado na tabela 2, os principais sinais clínicos apresentados pelos cães foram problemas respiratórios (11/25), entéricos (8/25), neurológicos (3/25), anorexia (7/25), apatia (5/25), desidratação (5/25), corrimento ocular (6/25),

palidez (4/25) e hipertermia (2/25). Em 60% (15/25) havia mais de um sinal clínico e 12% (3/25) o histórico não foi informado. Muitos desses sinais não foram atribuídos exclusivamente à toxoplasmose, pois em 48% (12/25) havia cinomose associada.

Tabela 2- Sinais clínicos observados em cães com toxoplasmose associada à cinomose.

Sinais clínicos	Toxoplasmose	Cinomose associada
Respiratório	11	3
Dificuldade respiratória	8	2
Tosse	3	1
Dispneia	3	1
Taquipneia	2	1
Cianose	2	-
Bradipneia	1	-
Entérico	8	4
Vômito	5	2
Diarreia	3	2
Melena	2	1
Distúrbios Neurológicos	3	3
Ataxia/Incoordenação	2	2
Convulsão	1	-
Encefalite	1	1
Síndrome vestibular	1	1
Outros Sinais clínicos	7	7
Anorexia	7	5
Apatia	5	1
Desidratação	5	1
Secreção purulenta ocular	6	4
Palidez de mucosas	4	-
Hipertermia	2	-
Pústulas no abdômen	3	3

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

5.1.1.2 Lesões macroscópicas

Na necropsia as principais lesões observadas foram em pulmões (17/25), fígado (10/25), linfonodos (5/25), intestinos (5/25), rins (4/25), baço (4/25), bexiga (4/25), coração (3/25) e SNC (2/25) (Tabela3). Alguns cães, não tiveram suas necropsias descritas (8/25) e apenas um não apresentou lesões.

Tabela 3- Principais lesões macroscópicas de caninos com toxoplasmose associada à cinomose.

Lesões macroscópicas	Número de casos	
	Toxoplasmose	Cinomose
Pulmões	17	4
Edema	17	4
Pontos branco-amarelados acinzentados	8	3
Congestão	6	-
Fígado	10	4
Coloração branco-amarelada	8	1
Pontos brancos	4	1
Padrão lobular evidente	4	2
Aumentado de tamanho	2	1
Vesícula biliar edemaciada	1	-
Linfonodos	5	1
Aumentado de tamanho	6	1
Áreas branco-amareladas	3	-
Intestino delgado/grosso	5	2
Petéquias	2	1
Sufusões	1	-
Hiperemia	1	1
Rins	4	2
Pontos brancos no parênquima	2	2
Petéquias na superfície cortical	1	1
Baço	4	1
Aumentado de tamanho	3	1
Hiperplasia de polpa branca	2	1
Bexiga	4	2
Hemorragias na mucosa	4	2
Equimose	1	-
Palidez na mucosa	1	-
Coração	3	1
Hidropericárdio	1	-
Dilatação bilateral	2	1
Sistema nervoso central	2	1
Congestão das meninges	1	1
Hidrocefalia	1	-

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

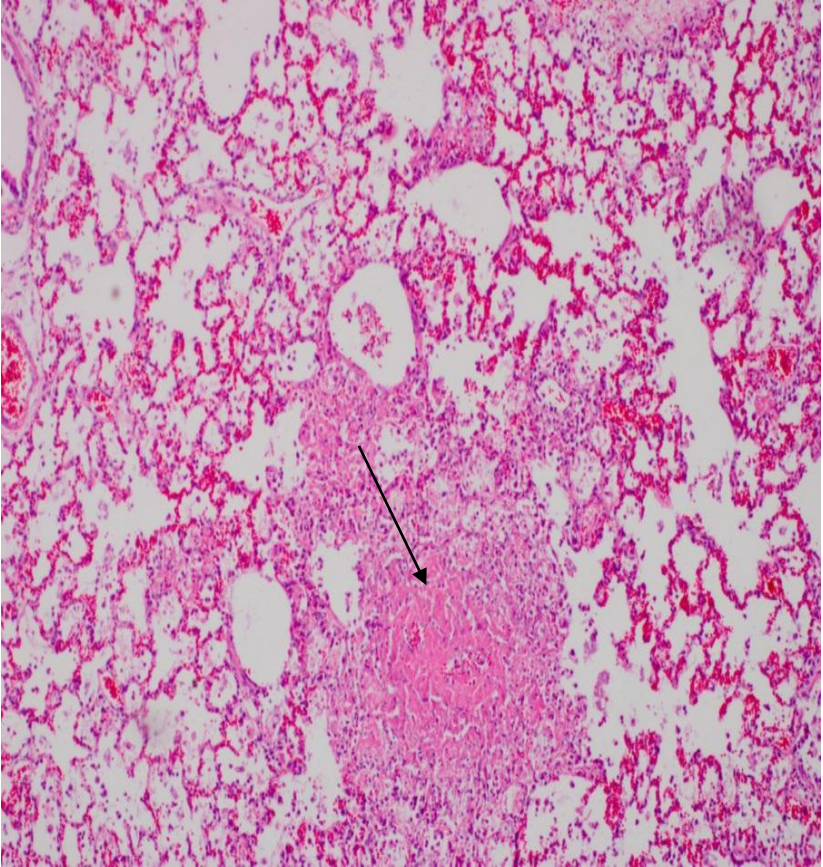
5.1.1.3 Avaliação histopatológica

Na histologia as principais lesões foram observadas em pulmões, fígado, baço e linfonodo e caracterizavam-se por necrose fibrinoide multifocal de leve a acentuada (Figura 1 e 2), associada a infiltrado de neutrófilos, macrófagos e em alguns casos raros eosinófilos e células gigantes; com cistos ou taquizoítos livres intralesionais.

Em um canino observou-se lesão gástrica caracterizada por edema e exsudação fibrinosa acentuadas de submucosa com trombose multifocais, cistos intralesionais e cistos livres sem reação inflamatória na mucosa (Figura 3). Nesse mesmo animal cistos livres foram observados na camada muscular do intestino delgado.

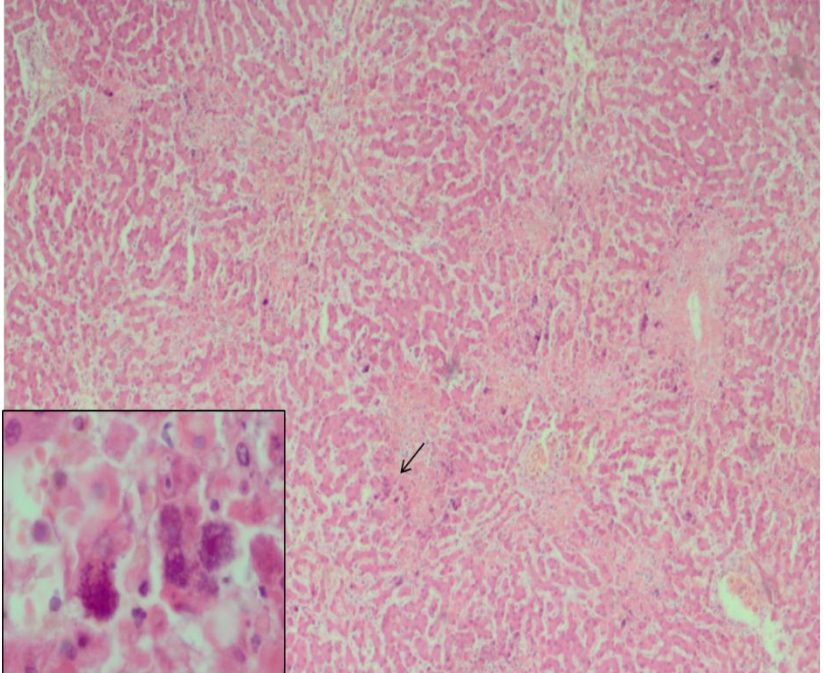
Além das lesões descritas, foi observada congestão (4/25) e degeneração gordurosa (1/25) hepática. Nos animais com cinomose foi observado também corpúsculo de inclusão de Lentz em pulmão (1/12), bexiga (1/12) e cerebelo (1/12).

Figura 1- Pulmão de canino com toxoplasmose. Necrose fibrinoide acentuada, focal (Seta) (HE; obj. 10X).



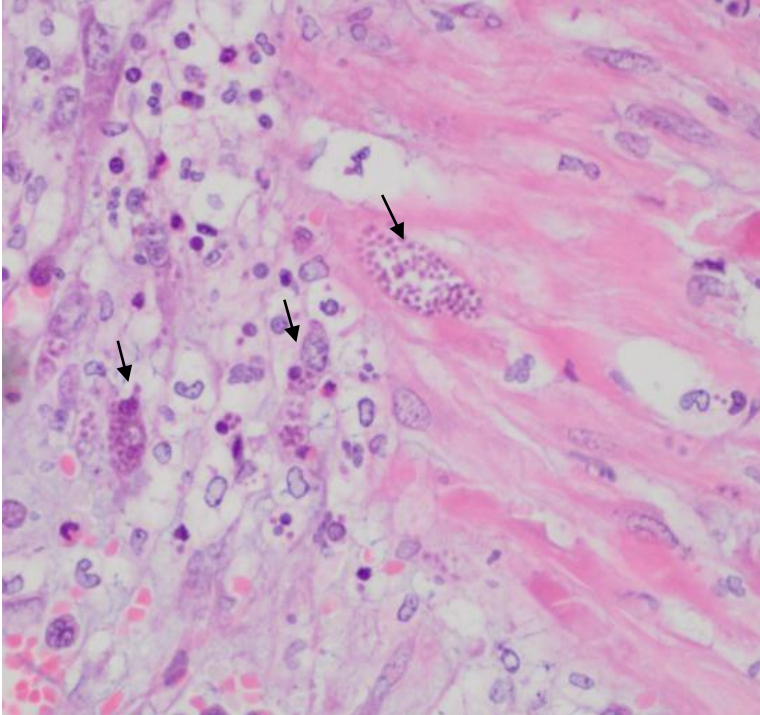
Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Figura 2- Fígado de canino com toxoplasmose. Necrose fibrinoide, moderada, multifocal com taquizoítos no interior de hepatócitos (Seta) evidenciados no detalhe (HE; obj. 10X e HE; obj. 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

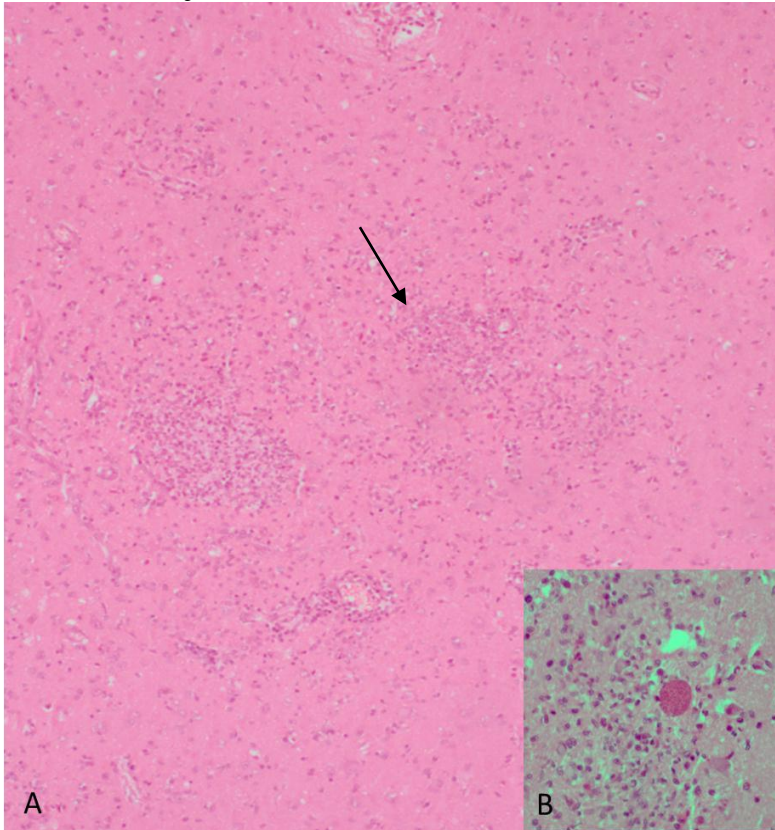
Figura 3- Estômago de canino com toxoplasmose. Cistos e taquizoítos livres (Setas) na camada muscular do estômago (HE; obj. 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

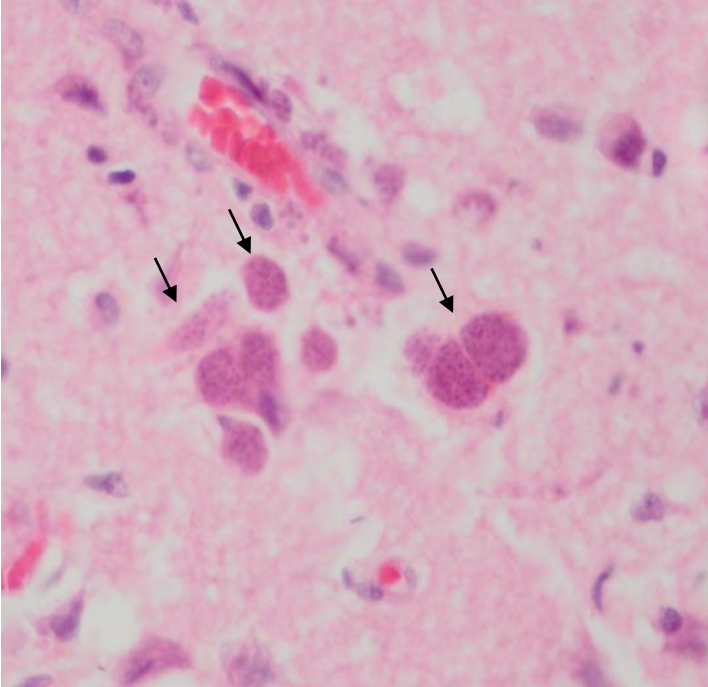
No SNC as lesões observadas foram gliose (9/25) (Figura 4) com infiltrado de macrófagos (4/25) e neutrófilos (2/25), áreas de malácia (3/25), cistos (11/25) e taquizoítos (10/25) na meninge e ou no neurópilo associada ou não a resposta inflamatória (Figuras 4 e 5). Em seis casos, todos associados à cinomose, havia também desmielinização de substância branca.

Figura 4- Encéfalo de canino com toxoplasmose. A) Gliose (Setas) multifocal acentuada (HE; obj. 10X). B) Cisto de toxoplasmose associada à gliose (HE; obj. 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

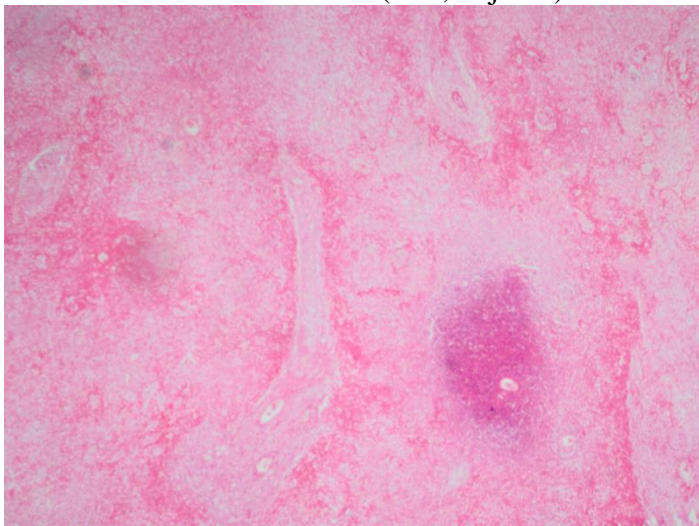
Figura 5- Encéfalo de canino com toxoplasmose. Múltiplos cistos (Setas) sem reação inflamatória. (HE; obj. 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Necrose fibrinoide foi observada em pulmões (18/25), fígado (14/25), linfonodo (10/25), baço (2/25), coração e submucosa do estômago (1/25) e variavam de intensidade leve a acentuada, exceto no linfonodo que era sempre massiva (Figura 6). As intensidades da necrose fibrinoide, nos diferentes órgãos estão relacionadas na tabela 4. Evidenciou-se que quando a toxoplasmose acometeu animais mais jovens a gravidade da lesão foi maior (Tabela 5).

Figura 6- Linfonodo de canino com toxoplasmose. Necrose massiva (H.E; obj. 4X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Tabela 4- Toxoplasmose em cães. Intensidade da necrose fibrinoide observada nos diferentes órgãos.

Caso	Pulmões	Fígado	Linfonodo	Baço	Coração	Sub. do Estômago
1	+++	A.L	N.A	A.L	A.L	N.A
2	++	+	++++	A.L	A.L	N.A
3	N.A	++	++++	N.A	A.L	N.A
4	N.A	++	++++	N.A	A.L	N.A
5	+	+	++++	N.A	N.A	N.A
6	+++	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
7	+++	++	++++	+++	A.L	N.A
8	+++	A.L	++++	A.L	A.L	N.A
9	N.A	N.A	++++	N.A	N.A	N.A
10	++	+	N.A	N.A	N.A	N.A
11	A.L	+	A.L	A.L	N.A	N.A
12	+	+	N.A	N.A	N.A	A.L
13	++	++	N.A	N.A	+	N.A
14	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
15	++	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
16	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
17	++	++	N.A	N.A	N.A	N.A
18	+	+++	N.A	+	N.A	N.A
19	N.A	N.A	N.A	++	N.A	N.A
20	++	N.A	N.A	A.L	N.A	N.A
21	++	++	++++	N.A	N.A	N.A
22	+	A.L	A.L	A.L	A.L	N.A
23	++	++	N.A	N.A	N.A	N.A
24	+	++	++++	N.A	N.A	N.A
25	++	A.L	++++	A.L	A.L	++

Sub= Submucosa; Intensidade= discreta (+), moderada (++) , acentuada (+++) e massiva (++++); A.L= Ausência de lesões; N.A= Não analisado.

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Tabela 5- Toxoplasmose em cães. Diferença da intensidade de necrose fibrinoide entre filhotes e adultos observada em pulmões, fígado e linfonodo.

Necrose fibrinoide	Intensidade	0 a 6 meses 10 animais	Maior que 2 anos 7 animais
Pulmões	AL	3	5
	+	2	1
	++	5	1
	+++	0	0
Fígado	AL	3	4
	+	3	0
	++	4	2
	+++	0	1
Linfonodo	AL	6	5
	Massiva	4	1

AL= Ausência de Lesões; Intensidade= discreta (+), moderada (++) , acentuada (+++).

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

O pulmão foi o órgão que mais apresentou cistos (76%) e ou taquizoítos (28%), seguido pelo SNC (cistos 48% e taquizoítos 44%) e fígado (cistos 28% e taquizoítos 40%). O percentual de cistos e taquizoítos nos diferentes órgãos estão expressos nos gráficos 2. Da mesma maneira que a necrose fibrinoide, as estruturas parasitárias também foram observados mais frequentemente nos animais jovens (Tabela 6).

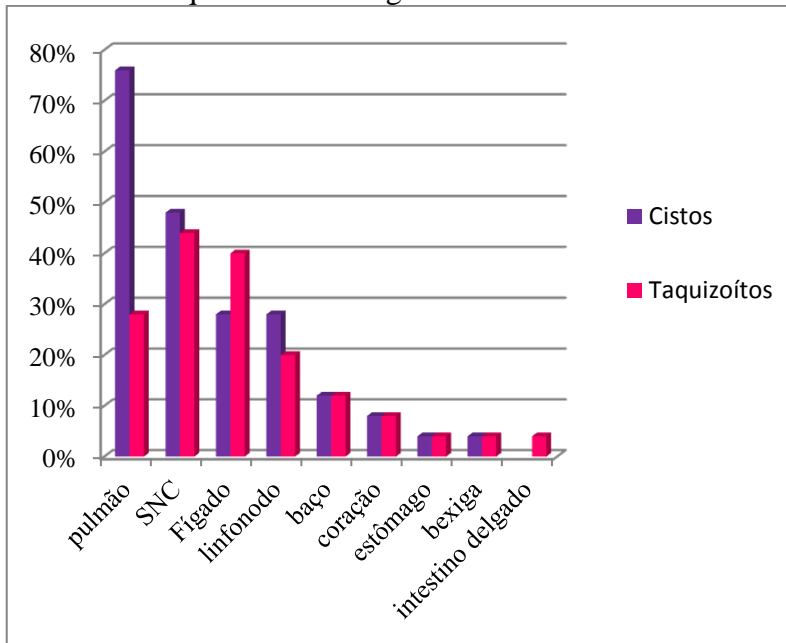
Tabela 6- Toxoplasmose em cães. Diferença da presença de cistos e taquizoítos por órgão entre filhotes e adultos.

Órgão	0 a 6 meses		Maior que 2 anos	
	Cistos	Taquizoítos	Cistos	Taquizoítos
Pulmões	7	1	2	1
SNC	5	4	3	2
Fígado	4	4	2	2
Linfonodo	4	3	1	0
Baço	2	1	0	0
Coração	1	1	0	1
Intestino	0	1	0	0
Total	23	15	8	6
Total de parasitos		38		14

SNC= Sistema nervoso central.

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

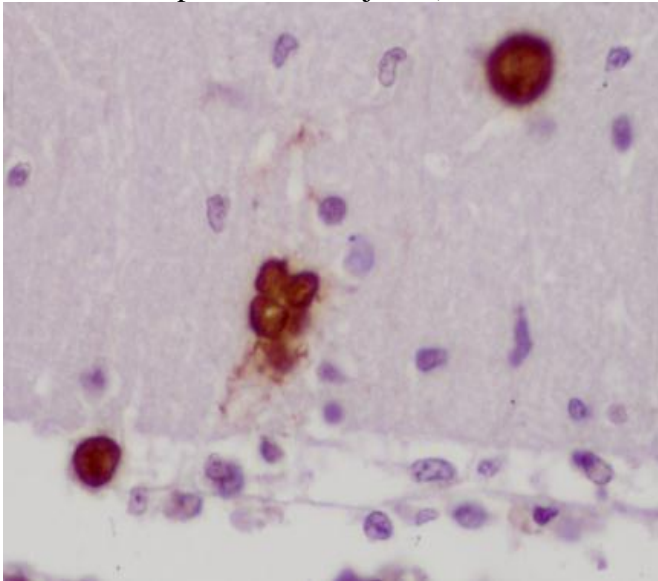
Gráfico 2- Toxoplasmose em cães. Porcentagem de cistos e taquizoítos nos órgãos acometidos.



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

O diagnóstico definitivo de toxoplasmose foi realizado pela IHQ. Dos 25 casos, 22 apresentaram marcação positiva de cistos e ou taquizoítos nos tecidos (Figuras 7). Três casos a IHQ não foi realizada por insuficiência de material para análise, mas nesses casos havia cistos nas lâminas coradas por HE. O resultado da IHQ encontra-se na Tabela 7.

Figura 7- Toxoplasmose em cães. Imuno-histoquímica anti-*Toxoplasma gondii* com marcação positiva em cistos no encéfalo (Estreptavidina-biotina ligada à peroxidase; obj 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

Tabela 7- Resultados da imuno-histoquímica anti-*Toxoplasma gondii* em caninos.

Casos	Órgão	Histologia	IHQ
1	Pulmão	P	+++
2	Pulmão	P	++
3	Fígado	P	++
4	Fígado	P	++
5	Pulmão	P	++
6	Pulmão	P	+
7	Baço	P	+++
8	Pulmão	P	++
9	Linfonodo	P	+++
10	Pulmão	P	+
11	Fígado	P	++
12	Fígado	P	+
13	Fígado	P	+++
14	SNC	P	++
15	SNC	P	-
16	SNC	P	-
17	Fígado	P	++
18	Pulmão	P	++
19	Baço	P	-
20	Baço	P	++
21	Fígado	P	+
22	SNC	P	+
23	SNC	P	+
24	Pulmão	P	++
25	Pulmão	P	+++
TOTAL	25	25	22

P= Presença de cisto e/ou taquizoítos; Intensidade de marcação= discreta (+), moderada (++) e acentuada (+++).

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

5.2 ASSOCIAÇÃO DA CINOMOSE COM TOXOPLASMOSE

Dos 25 casos de toxoplasmose, 12 tinham cinomose associada. Sete desses apresentavam no exame histopatológico corpúsculos de Lentz ou desmielinização da substância branca do encéfalo, lesões essas que permitiam o diagnóstico da doença. Cinco casos não apresentavam lesões típicas de cinomose, porém os animais tinham além das necroses fibrinoides, pneumonia catarral de moderada a acentuada, o que poderia ser secundária a cinomose e, portanto, também foram incluídos no exame de IHQ anti-cinomose.

Dos 12 casos submetidos à IHQ, apenas um foi negativo por insuficiência de material em bloco, no entanto nesse caso havia corpúsculos de Lentz na bexiga. Os resultados da avaliação histológica e da IHQ para cinomose estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8- Resultados da avaliação histológica e imuno-histoquímica anti-cinomose de caninos com toxoplasmose.

Caso	Histologia	IHQ
1	P	+
2	CIL	I
7	P	+
12	CIL	+
13	P	+
14	CIL	+
15	P	+
16	P	+
17	P	+
18	P	+
19	P	+
25	P	+

P= Presença de lesões características de cinomose; CIL= Corpúsculo de Inclusão de Lentz observado na histologia; += Positivo; I= Insuficiente;

Fonte: produção do próprio autor, 2015.

5.2.1 Toxoplasmose em felinos

Dos 27 casos positivos para toxoplasmose, apenas 7,4% (2/27) eram felinos; um dos animais tinha cinco anos e o outro não teve a idade informada, ambos eram machos. Em um dos felinos foi observada concomitante a toxoplasmose, leucemia linfóide.

5.2.1.1 Sinais clínicos e lesões anatomopatológicas

O felino 1 apresentou como sinal clínico apenas caquexia. Na necropsia observou-se palidez leve de mucosa e tecido subcutâneo, pulmões com

edema e diminutos pontos brancos de distribuição aleatória no parênquima e áreas avermelhadas de aproximadamente 1 cm de diâmetro nos lobos diafragmáticos (Figura 8). O fígado estava levemente amarelado com padrão lobular evidente, múltiplos pontos esbranquiçados de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro (Figura 9).

No segundo caso o animal apresentava dificuldade respiratória com suspeita clínica de bronquite crônica e infestação bacteriana associada. No exame macroscópico o animal apresentou mucosas pálidas e desidratação, pulmões de consistência firme e múltiplas áreas brancas entremeadas com áreas avermelhadas; ao corte fluía líquido seroso dos brônquios (Figura 10). Os linfonodos mediastínicos e baço estavam moderadamente aumentados, o baço apresentava também, múltiplos pontos esbranquiçados pelo parênquima.

Figura 8- Toxoplasmose em felino. Pulmões com edema, áreas avermelhadas multifocais e finos pontos brancos (Setas) de distribuição aleatória pelo parênquima.



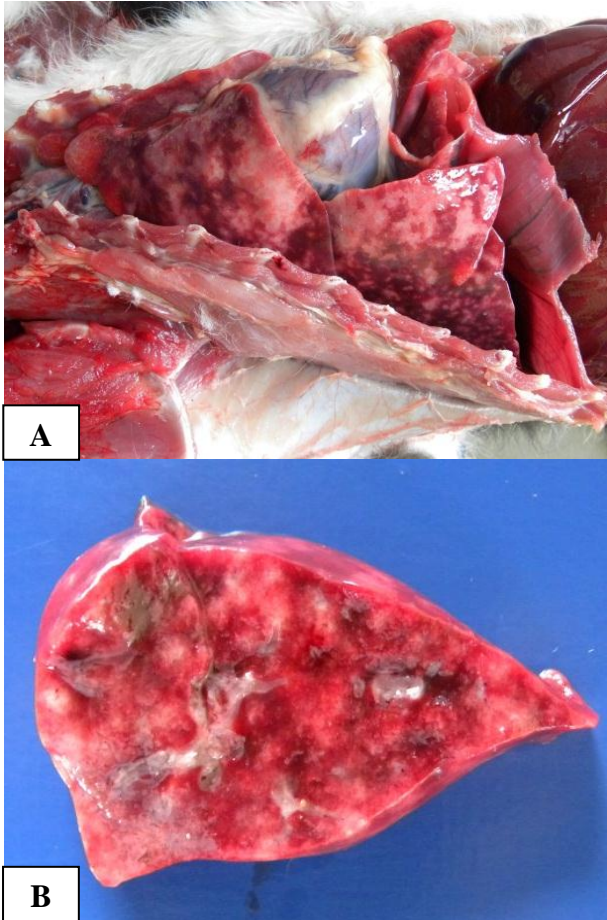
Fonte: LAPA/CAV, 2010.

Figura 9- Toxoplasmose em felino. Fígado com padrão lobular evidente e múltiplos pontos esbranquiçados (Setas) de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro.



Fonte: LAPA/CAV, 2010.

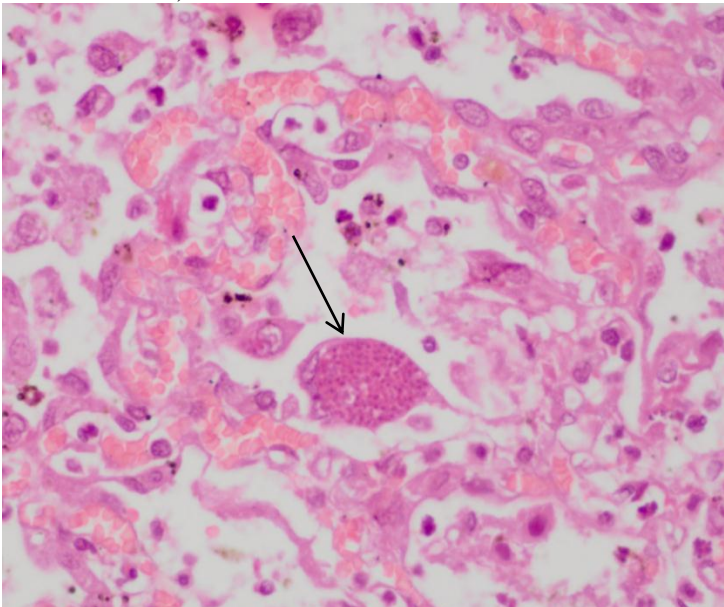
Figura 10- Toxoplasmose em felino. A) Pulmões não colabado e com múltiplas áreas brancas entremeadas com áreas avermelhadas. B) Detalhe na superfície de corte.



Fonte: LAPA/CAV, 2015.

As lesões histológicas observadas nos felinos foram no pulmão (2/2), fígado (2/2) e SNC (2/2). O pulmão caracterizava-se por pneumonia intersticial moderada com hiperplasia de pneumócitos tipo II, infiltrado de macrófagos e neutrófilos de leve (felino1) a moderado (felino 2), necrose fibrinoide multifocal, acentuada, com cistos e taquizoítos livres intralesionais e no interior de alvéolos (Figura 11). No felino 2 havia também a hiperplasia de epitélio bronquiolar.

Figura 11- Toxoplasmose em felino. Cisto (Seta) de *Toxoplasma gondii* no pulmão (HE; obj 40 X).

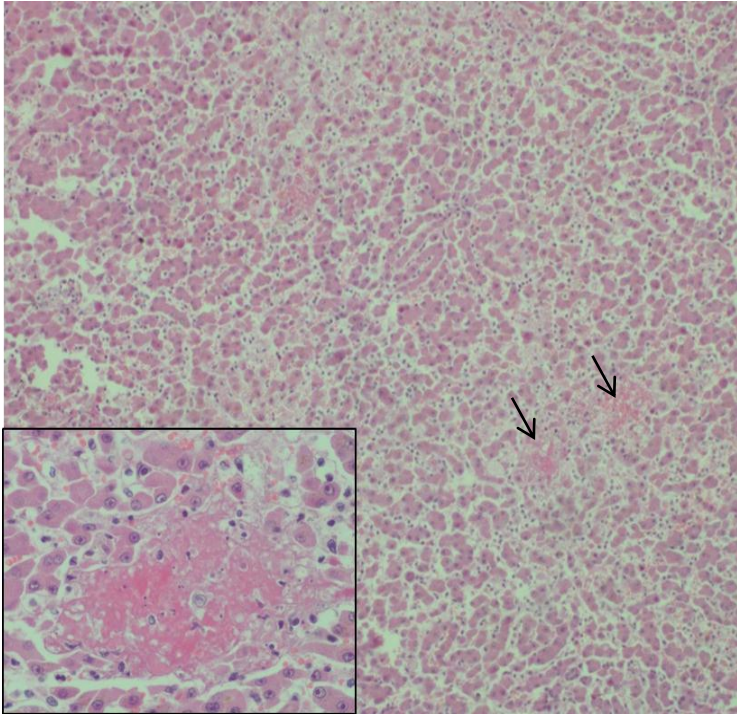


Fonte: produção do próprio autor, 2015.

No fígado observou-se necrose fibrinoide multifocal de moderada (felino1), a discreta (felino 2) com taquizoítos intralesionais e no interior de

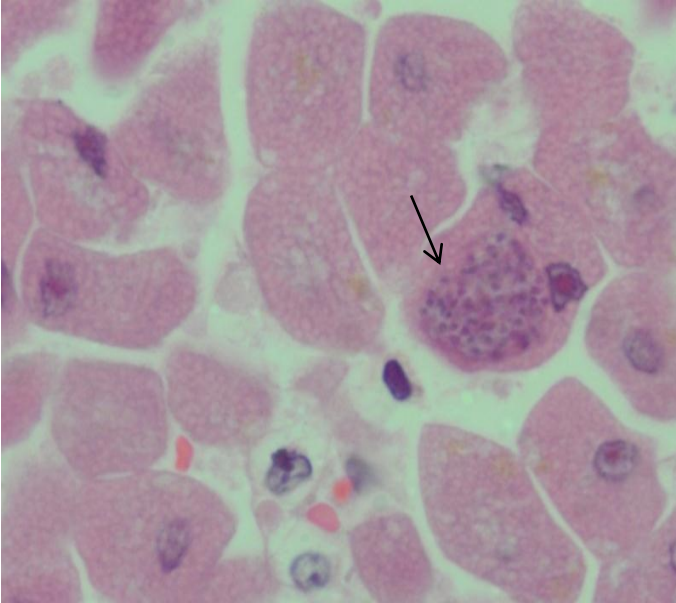
hepatócitos (Figuras 12 e 13), associada a retenção biliar moderada no interior de hepatócitos. No SNC foi observado áreas multifocais de gliose moderada (2/2) e no felino 1 havia também, áreas multifocais de malácia com cistos e taquizoítos associados ou não a lesão inflamatória.

Figura 12- Toxoplasmose em felino. Fígado com necrose fibrinoide multifocal (Seta) de hepatócitos (HE; obj 10X), com detalhe a necrose fibrinoide (HE; obj 40X).



Fonte: LAPA/CAV, 2015.

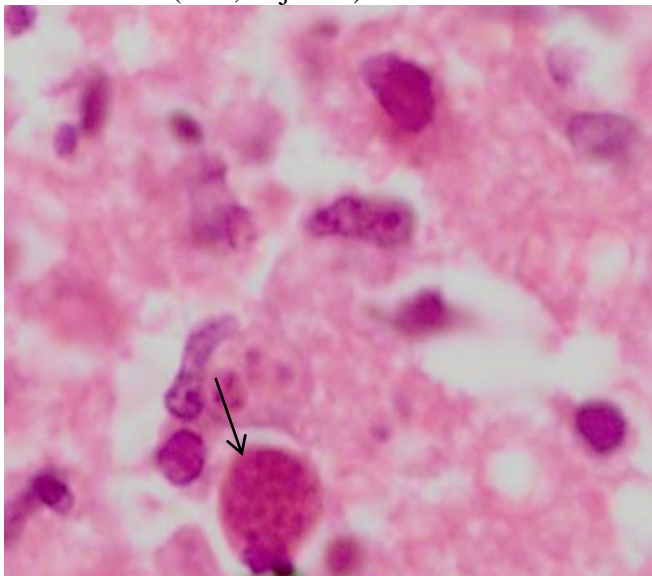
Figura 13- Toxoplasmose em felino. Cisto (Seta) de *Toxoplasma gondii* no interior de hepatócitos. (H.E; obj 100X).



Fonte: LAPA/CAV, 2010.

Nos rins havia infiltrado de macrófagos multifocal, moderado. No cérebro e cerebelo observam-se gliose, multifocal, moderada e áreas multifocais de malácia com inúmeros cistos (Figura 14) e taquizoítos livres.

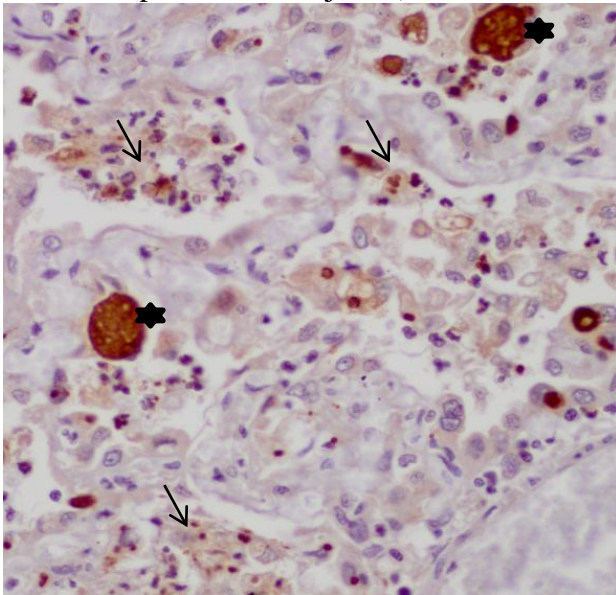
Figura 14- Toxoplasmose em felino. Cisto (Seta) de *Toxoplasma gondii* no encéfalo (H.E; obj 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

O diagnóstico definitivo de toxoplasmose foi realizado por meio de IHQ anti-*T. gondii*, sendo essa positiva nos dois casos (Figura 15).

Figura 15- Toxoplasmose em felino. Imuno-histoquímica anti- *Toxoplasma gondii* com marcação positiva de cistos (Asteriscos) e taquizoítos (Setas) no pulmão. (Estreptavidina-biotina ligada à peroxidase; obj 40X).



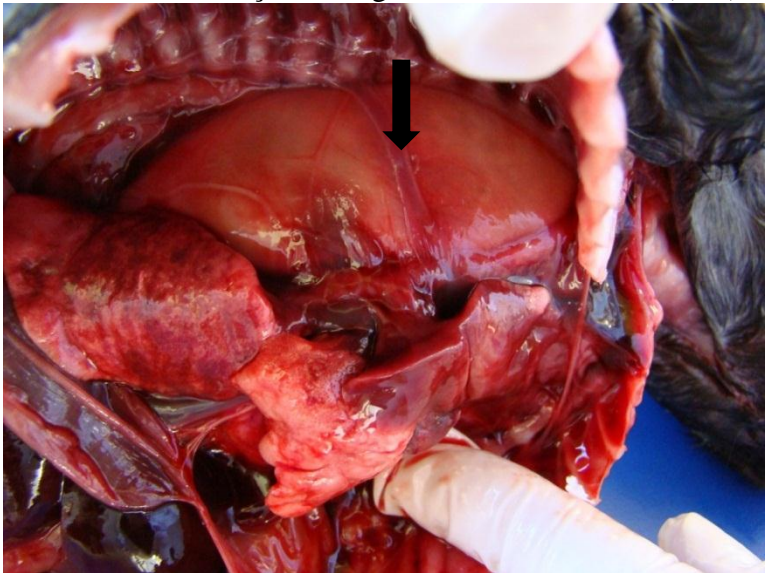
Fonte: produção do próprio autor, 2015.

5.3 NEOSPOROSE EM UM CANINO

Apenas um canino, fêmea de 6 anos de idade foi positivo para *N. caninum*. Esse animal apresentou histórico clínico de paralisia, sialorreia, vômito, regurgitação e megaesôfago. Na necropsia foi observado megaesôfago (Figura 16); coração com

dilatação ventricular direita, epicárdio e miocárdio com áreas de coloração esbranquiçada. O fígado estava congestionado e levemente firme, no parênquima havia nódulos brancos de consistência firme com aproximadamente 1-2 cm de diâmetro. Na musculatura esquelética, observam-se estrias esbranquiçadas de forma generalizada.

Figura 16- Neosporose em canino. Megaesôfago. Dilatação esofágica difusa, acentuada (Seta).

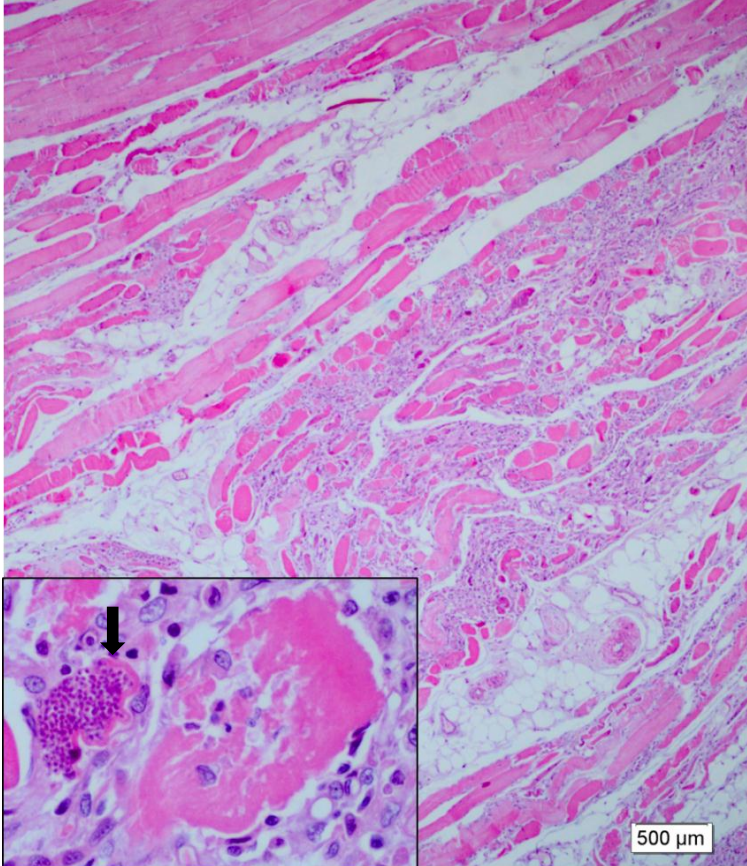


Fonte: LAPA/CAV, 2010.

As lesões histológicas observadas no SNC na região da ponte cerebelar foram infiltrados multifocais de macrófagos, perivascular, leve; gliose multifocal com taquizóitos livres intralesionais. No coração havia infiltrado de macrófagos multifocal de leve a moderado com necrose de cardiomiócitos e infiltrado de neutrófilos moderado no interior de vasos. As lesões observadas na musculatura esquelética dos

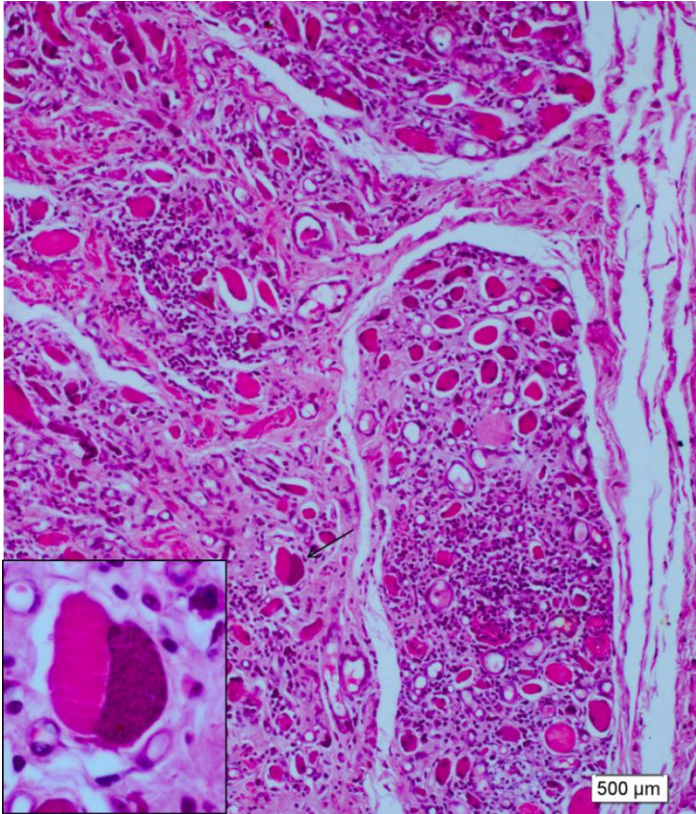
membros e camada circular do esôfago constituíam de áreas focalmente extensas de miofibras com infiltrado de macrófagos e em menor número neutrófilos, multifocal acentuado com proliferação de fibroblastos moderado e necrose de fibra esquelética com taquizoítos intracitoplasmáticos (Figuras 17 e 18). Além das lesões de neosporose, no fígado foi observado carcinoma hepatocelular. Além disso, foram observados figuras de regeneração caracterizadas por núcleos centrais enfileirados nas fibras musculares sendo frequente no músculo esquelético e raras na camada circular do esôfago.

Figura 17- Neosporose em canino. Infiltrado de macrófagos, plasmócitos, necrose de miofibras e tecido fibroso focalmente. No detalhe taquizoítos (Seta) no interior de fibras musculares (H.E; obj 10X e 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

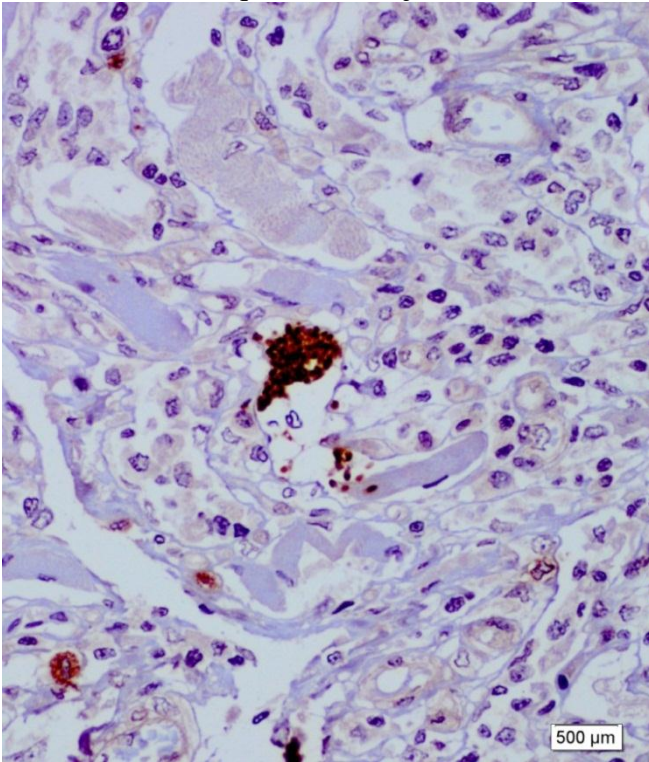
Figura 18- Neosporose em canino. Necrose e fibrose de miofibras, Infiltrado de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e raros neutrófilos multifocal acentuado com taquizoítos no interior de fibras esqueléticas (Seta), evidenciado no detalhe (H.E; obj 10X e 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

A IHQ anti-*Neospora caninum* foi realizada em fragmento de musculatura esquelética e houve imuno marcação positiva (Figura 19).

Figura 19- Neosporose em canino. Imuno histoquímica anti-*Neospora caninum* com marcação positiva em taquizoítos na musculatura esquelética (Obj 40X).



Fonte: produção do próprio autor, 2015.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo retrospectivo anatomopatológico em caninos e felinos, a ocorrência da toxoplasmose foi relativamente baixa. Em caninos foi de 0,18%, discordando de Ishizuka et al (1974), Sogorb et al (1972) apud Costa et al. (1978) e Moretti et al. (2002), onde a taxa de caninos infectados naturalmente por *T. gondii* foi elevada. Em felinos foi observada a ocorrência de 0,11%, porém nessa espécie a soroprevalência é elevada, entretanto a doença clínica é rara, pois o ciclo enteroepitelial geralmente não produz sinais clínicos em felinos (FIALHO et al., 2009) e embora uma grande quantidade dos animais de companhia sejam sorologicamente positivos no Brasil, poucos destes desenvolvem a doença (LAPPIN, 2004; DUBEY; LAPPIN, 2006).

Em caninos infectados pela toxoplasmose neste estudo não houve predisposição racial ou sexual, o que se assemelha a descrição da doença por Bresciani et al., 2001 e Giraldi et al., 2002. Em relação à idade, essa variou de 2 meses a 8 anos, porém a ocorrência desta enfermidade foi maior em animais com até 4 meses, período semelhante ao observado por Moretti et al. (2002). Isso se deve ao fato de os sinais clínicos generalizados serem observados com maior frequência em animais com menos de um ano de idade, pois esses são mais susceptíveis que os adultos (GIRÃO, 1975).

Em 48% dos casos foi observado que a cinomose estava associada à doença, concordando com Dubey e Lappin, (1998), que afirmaram que a associação de cinomose e toxoplasmose ocorrem em 99% dos casos clínicos. A cinomose é importante no

desenvolvimento da doença clínica de toxoplasmose, pois animais imunossuprimidos facilitam a reativação de processo em fase de latência (GIRÃO, 1975).

Pressupõe-se que a manifestação clínica desta enfermidade ocorra por um déficit da imunidade local ou sistêmica do organismo do hospedeiro, de modo que os mesmos podem apresentar a infecção primária ou recorrente (SWINGER, SHMIDT E DUBIELZIG 2009). Historicamente, a prevalência da toxoplasmose vem diminuindo devido ao uso de vacinas contra cinomose (DUBEY; LAPPIN, 1998).

Nos históricos clínicos, foi observado sintomatologia respiratória em 11 caninos. O protozoário gera necrose pulmonar, ocasionando a pneumonia e dispneia, embora em muitos casos desses caninos, a pneumonia seja decorrente da co-infecção com o vírus da cinomose (GALVÃO, et al., 2014). Desses, apenas três deles tinham cinomose o que demonstra que os sinais respiratórios são importantes indicadores clínicos de toxoplasmose em cães.

Os caninos apresentaram sintomatologia entérica e isso é decorrente da ingestão de cistos teciduais ou oocistos, gerando necrose pelos taquizoítos no intestino e nos órgãos linfoides associados. O parasito dissemina-se por via hemática e/ou linfática e por consequência, gera a necrose focal nos demais órgãos (DUBEY; LAPPIN, 1998).

Os sinais clínicos neurológicos apresentados pelos caninos, neste estudo, estão de acordo com os descritos por Moretti et al. 2002 e Giraldi et al. 2002. Porém nos históricos clínicos não foram encontrados relatos de déficits proprioceptivos, queda durante a deambulação, alteração de consciência (MORETTI et

al. 2002) e mioclonia (GIRALDI et al. 2002), descritos por outros autores.

Os sinais neurológicos variam de acordo com a localização da lesão no SNC (HASS; SHELL; SUNDERS, 1989). No nosso estudo, os três animais que apresentaram sinais neurológicos tinham co-infecção com cinomose. Os animais que apresentavam ataxia/incoordenação apresentavam malácia e desmielinização na histologia, sendo provavelmente os sinais clínicos decorrentes ou potencializados pela cinomose. O canino com síndrome vestibular tinha na histologia área focal de malácia e inúmeros cistos no neurópilo, sendo a sintomatologia clínica provavelmente secundária ao *T. gondii*.

Na descrição dos históricos clínicos, outros sinais foram observados como anorexia, apatia, desidratação, corrimento ocular, palidez, secreção purulenta, hipertermia e pústulas no abdômen, as manifestações tegumentares também podem estar associadas à toxoplasmose (GALVÃO et al., 2014) e a cinomose. Sintomatologia inespecífica como a anorexia, depressão, febre intermitente são comuns na toxoplasmose, já outros sinais são caracterizados pelo local da lesão a partir da disseminação extra intestinal, sendo que, os órgãos mais afetados são os pulmões, os olhos, o SNC, o fígado e a musculatura esquelética (BIRCHARD e SHERDING, 2003).

Em felinos, os sinais clínicos observados foram apenas os respiratórios. Esse resultado difere da literatura, onde, os sinais clínicos descritos em gatos são depressão, anorexia, hipertermia seguida por hipotermia, efusão peritoneal, icterícia e dispneia (DUBEY; LAPPIN, 1998; LAPPIN, 2004; NORSWORTHY, 2004). A infecção por *T. gondii* pode ocasionar uveíte anterior ou posterior,

hiperestesia muscular, perda de peso, convulsões, ataxia e diarreia (LAPPIN, 2004). Os sinais clínicos neurológicos são descritos como convulsões, tremores, paresia/paralisia e déficits de nervos cranianos (BARR, 2003).

Em um dos felinos a leucemia linfoide estava associada à doença, é certo que a evolução da toxoplasmose não depende somente da virulência da cepa infectante, contudo, depende também da resposta imune do hospedeiro e sua susceptibilidade a infecção (MAUBON et al., 2008). A toxoplasmose tem sido relatada em felinos infectados com leucemia felina (FeLV), imunodeficiência felina (FIV) e peritonite infecciosa felina (PIF) (DUBEY, 2006; LAPPIN, 2010).

O tipo e a magnitude dos sinais clínicos em animais de companhia irão depender da localização e do grau da lesão tecidual, isso se deve à ocorrência da necrose determinada pelo caráter intracelular do parasito (CORRÊA; CORRÊA, 1992; DUBEY; LAPPIN, 1998). Os sinais clínicos podem ser variados e comuns a diversas enfermidades em caninos e felinos, envolvendo vários tecidos e sistemas como gastrointestinal, linfático, esplênico, hepático, pulmonar, cardíaco, osteomuscular, ocular e nervoso (DUBEY, 1977; DUBEY; LAPPIN, 1998).

Nos achados macroscópicos dos caninos as principais lesões observadas foram no pulmão, fígado, linfonodos e são semelhantes àquelas descritas por Davidson (2000), Dubey (1985) e Costa et al. (1978) caracterizadas por pontos brancos multifocais no pulmão, fígado e rim, e aumento de linfonodos e baço. Na macroscopia do sistema nervoso central havia congestão das meninges e hidrocefalia e de acordo com Hunter et al (1993) apud Schalatter (2005) a

toxoplasmose causa a formação de granulomas perivasculares que causam obliteração do aqueduto. Marcondes et al (1992) complementa que o processo que causa uma obstrução total ou parcial na circulação do líquido, ou que prejudique sua absorção, como agentes infecciosos, ocasionam meningite ou encefalite e por consequência a hidrocefalia. Entretanto, as lesões descritas com frequência na literatura no SNC, são áreas de malácia e hemorragia (GRAÇA et al., 2010); hiperemia e edema (GIRÃO, 1975; COSTA et al. 1978). As lesões macroscópicas podem envolver qualquer área do SNC não havendo propensão para a substância cinzenta ou branca e as raízes dos nervos. Podem ainda incluir, focos de hemorragia e necrose e, após, focos granulares amarelo-amarronzados à cinza (ZACHARY, 2009).

As lesões macroscópicas observadas nos felinos também foram semelhantes àquelas descritas na literatura (DAVIDSON, 2000; COSTA et al. 1978) e caracterizaram-se por áreas multifocais branco amareladas no pulmão e pontos brancos multifocais no fígado.

As principais lesões histológicas em caninos foram observadas no pulmão, fígado, baço e eram caracterizados por necrose fibrinoide multifocal de leve a acentuada, com infiltrados de células inflamatórias com cistos ou taquizoítos livres intralésionais e estavam em conformidade com a literatura (GRAÇA et al., 2010; DUBEY, 1985; COSTA et al.; 1978; GIRÃO et al.; 1975; CAPEN e COLE, 1966; CASTRO et al.; 1962). Nos linfonodos a necrose era sempre difusa, lesão essa, também observada por Girão (1975).

Notou-se que a necrose fibrinoide era mais grave em animais jovens, assim, como as estruturas

parasitárias também foram observados com mais frequência nos animais jovens, isso se deve a ausência de imunidade nesses filhotes (SWINGER, SHMIDT E DUBIELZIG; 2009).

Em um dos caninos havia uma lesão gástrica com edema e exsudação fibrinosa acentuadas de submucosa e trombose multifocais com a presença de cistos intralesionais e cistos livres sem reação inflamatória na mucosa, o que reitera os achados histológicos de Girão (1975). Nesse mesmo animal alguns cistos livres foram visualizados na camada muscular do intestino delgado.

As lesões observadas no SNC são semelhantes a descritas na toxoplasmose e eram constituídas por gliose, com infiltrado de macrófagos e neutrófilos, áreas de malácia com a presença de cistos e taquizoítos na meninge e ou no neurópilo associada ou não resposta inflamatória, além de desmielinização em seis casos associados à cinomose.

No tocante ao SNC observou-se que embora somente três animais tenham apresentado sintomatologia neurológica e dois animais tenham apresentado congestão de meninge, o encéfalo foi o segundo órgão que mais apresentou cistos ou taquizoítos e isso se deve na maioria das vezes, a reativação de infecção latente principalmente em animais imunossuprimidos. O encéfalo ficou atrás somente do pulmão, salientando a importância de sua coleta para a elaboração do diagnóstico.

O pulmão revelou-se como um órgão importante no diagnóstico de toxoplasmose, pois além de lesões macro e microscópicas, os cistos e taquizoítos são observados com grande facilidade. Em contrapartida, o linfonodo, embora apresente necrose

difusa, o número de parasitos visualizados é bem menor que do que o observado no pulmão e SNC.

As lesões microscópicas da toxoplasmose em felinos foram semelhantes às aquelas observadas nos caninos e às descritas na literatura (GIRÃO 1975 e COSTA et al. 1978). Assim como nos caninos o pulmão foi o órgão mais importante para a formação do diagnóstico. Nos gatos, a doença clínica é rara, embora já tenham sido observado enterite, linfonodos mesentéricos aumentados, pneumonia, alterações degenerativas no SNC e encefalite (ABREU, 2002).

Em relação aos resultados obtidos na neosporose, apenas um canino foi positivo e confirmado por meio da técnica de IHQ. Diamante et al. (2014) descreveram que a enfermidade pode ocorrer em qualquer idade, mas na maioria dos casos clínicos, ocorrem em animais jovens que foram infectados congenitamente (DUBEY et al., 1990). Esse animal não era jovem, mas apresentava carcinoma hepatocelular o que pode ter contribuído para o desenvolvimento da doença.

Os sinais clínicos apresentados por esse canino, se assemelham aos descritos por Diamante et al. (2014), Barber (1998) e Farias (2002). Da mesma forma as lesões de necropsia foram também relatadas por Barber (1998). Neste estudo, observamos que principal sinal clínico foi a regurgitação e o megaesôfago, Basso et al (2005) apud Puggle (2008), citam que a causa do megaesôfago devido a necrose que os taquizoítos ocasionam na musculatura do esofágica, portanto a neosporose deve ser sugerida no diagnóstico diferencial de megaesôfago em cães. Porém em cães adultos a apresentação é mais variada, pois além dos sinais neuromusculares, pode ocorrer

dermatite piogranulomatosa, miocardite fatal e pneumonia (BARBER e TREES, 1998).

Na histologia as lesões significativas de neosporose são restritas aos sistemas nervoso e muscular, caracterizadas no SNC por gliose, malácia e cistos, e na musculatura por necrose de fibras cardíacas e esqueléticas, com infiltrado de macrófagos, neutrófilos, proliferação de tecido fibroso com taquizoítos no interior das fibras musculares, semelhantes às descritas por Uggla et al. (1989); Odin e Dubey, (1993).

As lesões histológicas necróticas associadas aos protozoários do gênero *Toxoplasma* e *Neospora* são semelhantes entre si. Nesse estudo os caninos com toxoplasmose tiveram lesões significativas nas vísceras como pulmão, SNC, fígado, baço e linfonodo. E para neosporose foram restritas a músculos esqueléticos, cardíaco e SNC. O diagnóstico diferencial foi realizado através da técnica de IHQ, com anticorpos policlonais, sendo considerado positivo àquele com maior intensidade de marcação.

7 CONCLUSÃO

O estudo anatomopatológico retrospectivo realizado dos casos diagnosticados como infecção por *Toxoplasma gondii* e/ou *Neospora caninum* em caninos e felinos através da técnica de IHQ, permite concluir:

1. Foram diagnosticados 27 casos de toxoplasmose, 25 em cães e 2 em gatos e um caso de neosporose em cães e a IHQ foi eficaz na confirmação dos casos.
2. Para a toxoplasmose em cães conclui-se que:
 - a. Os sinais clínicos mais importantes foram respiratórios, entéricos e nervosos.
 - b. Os animais jovens foram os mais acometidos e com maior intensidade de lesões.
 - c. A necrose fibrinoide associada ao parasita foi a lesão mais significativa, sendo observada com maior frequência no pulmão, no fígado e no linfonodo.
 - d. No sistema nervoso central as lesões mais observadas foram gliose com cistos e taquizoítos na meninge e no neurópilo.
 - e. Os cistos e taquizoítos foram observados com maior frequência no pulmão, no SNC e no fígado.
 - f. A cinomose foi associada à toxoplasmose em 12 cães.

3. Para toxoplasmose em gato conclui-se que:
 - a. Os quadros clínicos caracterizaram-se por sinais respiratórios.
 - b. A necrose fibrinoide associada ao parasito foi à lesão mais significativa, sendo observada no pulmão, fígado e linfonodo de ambos os animais.
 - c. A imunossupressão foi associada à leucemia em um gato.
4. Para neosporose conclui-se que:
 - a. O caso positivo para neosporose apresentou sinais clínicos neuromusculares e megaesôfago.
 - b. A lesão histológica muscular caracterizou-se por necrose e miosite necrótica subaguda com fibrose e taquizoítos no interior de fibras musculares.

REFERÊNCIAS

ABREU, C.B. et al. Toxoplasmose ocular em cães experimentalmente inoculados com *Toxoplasma gondii*. In: **Encontro nacional de patologia veterinária**, 9., 1999, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte, p.71, 1999.

ABREU, C. B.; NAVARRO, I. T.; REIS, A. C. F.; SOUZA, M. S. B.; MACHADO, R.; MARANA, E. R. M.; PRUDÊNCIO, L. B.; MATTOS, M. R.; TSUTSUI, V. S. Toxoplasmose ocular em cães jovens inoculados com *Toxoplasma gondii*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.5, p.807-812, 2002.

ANDERSON, M.L.; ANDRIANARIVO, A.G.; CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Anim. Reprod. Scien.** v.60, n.61, p.417-431, 2000.

ANDREOTTI, R. Neosporose: um possível problema reprodutivo para o rebanho bovino. **H Vet, Porto Alegre**, n.122, p.65-67, 2001.

ANDREOTTI, R.; OLIVEIRA, J.M.; ARAÚJO E SILVA, E.; OSHIRO, L.M.; MATOS, M.F.C. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p.375-379, 2006 .

ANTONY, A.; WILLIAMSON, N.B. Recent advances in understanding the epidemiology of *Neospora caninum* in cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, v.49, p. 42-47, 2001.

AZEVEDO, S. S., BATISTA , C. S. A., VASCONCELLOS , S. A., AGUIAR , D. M., RAGOZO ,A. M. A., RODRIGUES , A. A. R., ALVES , C. J., GENNARI, S. M. **Seroepidemiology of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil.** (no prelo).

BARBOSA, M.V.F.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, MAO.; GONDIM, L.F.P.; REGIS, G.B. Frequência de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 40, 6, 457- 465, 2003.

BARR, S. C. Toxoplasmose. In: **Consulta veterinária em 5 minutos- espécies canina e felina.** 2ed., São Paulo: Manole, p 1260-1261, 2003.

BARTELS,C. J.; WOUDA, W.; SCHUKKEN,Y.H. Risk factors for *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1997 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, p. 247-257, 1999.

BARBER, J.S.; TREES, A.J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. **Veterinary Record**, v. 139, p. 439-443, 1996.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G.; **Manual Saunder: Clínica de Pequenos Animais**. 2^a ed. São Paulo: Roca, 2003.

BRAGA, M.S.O.do. **Diagnóstico Molecular de hemoparasitas e Frequência de Anticorpos Anti-Toxoplasma gondii, em gatos peridomiciliados na cidade de São Luís, Maranhão**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010, 107 p.

BREZIN A.P.; KASNER, L.; THULLIEZ, P.; LI, Q.; DAFFOS, F.; NUSSENBLATT, R.B.; CHAN, C.C. Ocular toxoplasmosis in the fetus: immunohistochemistry analysis and DNA amplification. **Retina** 14: 19-26, 1994.

BRESCIANI, K. D. S.; TONIOLLO, G. H.; COSTA, A. J.; SABATINI, G. A.; MORAES, F.R. Clinical, parasitological and obstetric observations in pregnant bitches with experimental toxoplasmosis. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p. 1039-1043, 2001.

BRESCIANI, K. D. S.; COSTA, A. J. DA;
NAVARRO, I.T.; TONIOLLO, G.H.; SAKAMOTO,
C.A.M ; ARANTES, T.P. ; GENNARI, S.M.
Toxoplasmose canina: aspectos clínicos e patológicos.
Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 29, n. 1, p.
189-202, jan./mar. 2008.

BJERKÄS, I. DUBEY, J.P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian Dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.32, p. 407-410, 1991.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1497-1507, 1999.

CABRAL, D. D., MINEO, J. R., MINEO, T. W. P.,
COSTA, G. H. N., VON ANCKEN, A. C. B., SILVA,
D. A. O. Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de cães positivos e negativos a *Toxoplasma gondii*. In: **Seminário brasileiro de parasitologia veterinária**, 11, 1999, Salvador, Anais...

CANTOS, G.A.; PRANDO, M.D.; SIQUEIRA, M.V.;;
TEIXEIRA, R.M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **Ver. Ass. Med. Brasil**, 46 (4): 335-41, 2000.

CAÑÓN-FRANCO, W. A., BERGAMASCHI, D. P., LABRUNA, M. B., CAMARGO, L. M. A., SOUZA, S. L. P., SILVA, J. C. R., PINTER, A., DUBEY, J. P. GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies anti-*Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 115, p.71-74 p, 2003.

CAÑÓN-FRANCO W.A., BERGAMASHI D.P., RICHTZENHAN L.J., NOGUEIRA Y., CAMARGO L.M.A., SOUZA S.L.P. & GENNARI S.M. Evaluation of the performance of the modified direct agglutination test (MAT) for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. 40: 452-456, 2003.

CASAGRANDE, R.A.; SILVA, T.C.E.da.; PESCADOR, C.A.; BORELLI, V.; SOUZA, J.C. Jr.; SOUZA, E.R.; TRAVERSO, S.D. Toxoplasmose em Primatas Neotropicais: Estudo Retrospectivo de Sete Casos. **Pesq. Vet. Bras.** vol.33 n.1, Rio de Janeiro Jan. 2013.

CASTRO, A. F. P.; CALDAS, A. D.; ROSA, C. A. S.; MELLO, D.; QUEIROZ, J. C. Isolamento de *Toxoplasma gondii* de cão e observações sobre casos clínicos. **O Biológico**, São Paulo, v.28, n.2, 1962, 46-50 p.

CAPEN, C. C.; COLE, C. R. Pulmonary lesions in dogs with experimental and naturally occurring toxoplasmosis. **Pathologia Veterinaria**, Basel, v.3, n.1, 1966, 40-63 p.

COELHO R.A., KOBAYASHI M. & CARVALHO JUNIOR L.B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 45: 229-231, 2003.

CORREA, W. M.; CORREA, C.N. M. Toxoplasmose. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 757-766 p.

COSTA, A. J.; LUCAS, A.; MORAES, F. R.; KLOBUCARIC, A.; PAULILLO, A.C. Contribuição ao estudo da toxoplasmose canina. **O Biológico**, São Paulo, v.44, p.293- 297, 1978.

DAVIDSON, M.G; LAPIN, M.R. English RV, Tompkins MB. A feline model of ocular toxoplasmosis. **Invest Ophthalmol Visual Sci** 12: 3653-3660, 1993.

DAVISON, H.C OTTER, A.; TREES, A. J..
Significance of *Neospora caninum* in British Daisy
cattle determined by estimation of seroprevalence in
normal calving cattle and abortem cattle.
International Journal for Parasitology, v.29, p.
1683 - 1689, 1999.

DUBEY, J.P. *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Besnoitia*,
sarcocystis, and other tissue cyst-forming coccidia of
man and animals. In: KREIER, J. P. (Ed.). Parasitic
protozoa - gregarines, haemogregarines, coccidia,
plasmodia and haemoproteids. **New York: Academic
Press**, v.3, p.101-237, 1977.

DUBEY, J. P. *Toxoplasmosis* in dogs. **Canine
Practice**, Santa Barbara, v.28, p.7-28, 1985.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of
animals and man**. Boca Raton: CRC, 1988.

DUBEY, J. P., CARPENTER, J. L., SPEER, C. A.,
TOPPER, M. J., UGGLA, A. **Newly recognized fatal
protozoan disease of dogs** **Journal of the American
Veterinary Medicine Association**, v. 192, p. 1269-
1285, 1988.

DUBEY, J.P.; DOROUGH, K.R.; JENKINS, M.C.; LIDDELL, S.; SPEER, C.A.; KWOW, O.C.H.; SHEN, S.K. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1293-1304, 1998.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders Company, Cap. 90, p.493-503, 1988.

DUBEY, J.P. et al. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. **J Am vet Med Assoc**, v. 193, p. 1259-1263, 1988.

DUBEY, J. P., LINDSAY, D. S. Fatal *Neospora caninum* infection in kittens. **Journal Parasitology**, v.75, p.148-151, 1989.

DUBEY JP, KOESTNER A, PIPER RC. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. **J Am Vet Med Assoc** 197: 857-860, 1990.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis. **Parasitology Today**, Amsterdam, v.9, n.12, p.452-458, 1993.

DUBEY JP, LIN TL. Acute toxoplasmosis in a gray fox (*Urocyon cenereargenteus*). **Vet Parasitol** 51: 321-325, 1994.

DUBEY, J. P., LINDSAY, D.S. *Neospora caninum* infection in dogs. **American Journal of Veterinary Dermatology**, v.67, p.1-59, 1996.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cyst. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.11, n.2, p.267-299, 1998.

DUBEY, J. P., LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and Neosporosis. In: GREEN, G. G. (Ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 2 th ed. Philadelphia: Saunders, Cap.80, p.493-509, 1998.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SAVILLE, W.J.A.; REED, S.M.; GRANSTROM, D.E.; SPEER, C.A. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 89–131, 2001.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.;
 BJERAS, I.; BJORKMAN, C.; BLAGBURN, B.L.;
 BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.;
 GOTTSSTEIN, B.; HEMPHIL, A.; HILL, D. E.;
 HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.;
 KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSO, J. G.;
 McALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.;
 SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A.J.;
 UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.;
 LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum*
 and its differentiation from related coccidia. **Int J**
Parasitol., v. 32, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and
 neosporosis in animals. **Korean Journal of**
Parasitology v. 41, n.1, p.1-16, 2003.

DUBEY, J.P. *Neospora caninum* and neosporosis in
 animals. **Korean Journal Parasitology**, v. 41, p.1-16,
 2003.

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

DUBEY, J. P.; CHAPMAN, J. L.; ROSENTHAL, B.
 M.; MENSE, M.; SCHUELER, R. L. Clinical
Sarcocystis neurona, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma*
gondii, and *Neospora caninum* infections in dogs.
Veterinary Parasitology. v. 137, p. 36-49, 2006.

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, p. 754-775, 2006.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: **Infectious diseases of the dog and cat**. 3ed. St Louis: Craig E. Greene, Cap 80, p. 754-775, 2006.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and Control of neosporosis and Neospora Caninum. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n 2, p. 323-367, 2007.

DUBEY, J. P. The history *Toxoplasma gondii* – the first 100 years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Lawrence, v.55, n.6, p. 467-475, Dec. 2008.

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

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals—The last five years. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 180, n. 1-2, p. 90-108, ago. 2011. doi:10.1016/j.vetpar.2011.05.031

DURAN F.P., CABRAL D.D., FERREIRA F.A.,
SILVA D.A.O., MINEO J.R. & SOUZA
M.A. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma*
gondii (Nicolle & Manceaux, 1909), em cães
cl clinicamente sadios da cidade de Uberlândia-MG. In:
I Congresso de Zoonoses (Rio de Janeiro, Brasil).
p.228, 1997.

FALANGOLA, M.F.; PETITO, CK. Choroid plexus
infection in cerebral toxoplasmosis in AIDS patients.
Neurology 10: 2035-2040, 1993.

FARIAS, N. A. R. Neosporose: uma enfermidade a
ser estudada. *Ciência e Tecnologia Veterinária*, v. 1,
n. 1, p. 5-14, 2002.

FERNANDES, W.J. & BARBOSA, W.
Toxoplasmose - Notas sobre sua ocorrência em
animais domésticos em Goiânia -(1970). **Revista de**
Patologia Tropical. 1: p. 259-265, 1972.

FIALHO, C.G.; TEIXEIRA, M.C.; ARAÚJO,
F.A.P.de. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta**
Scientiae Veterinariae. 37(1): 1-23, 2009.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R.
Doenças infecciosas e parasitárias. 6^a ed. Rio de
Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. p.683-699.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI R. & FOCCACIA R. (Eds). **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, p.1803, 1997.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4^a ed. Editora Ícone. 4ed, p.123-131, 2004.

GALVÃO, A.L.B.; VASCONCELLOS, A.L. de.; NAVARRO, I.T.; BRESCIANI, K.D.S. Aspectos da toxoplasmose na clínica de pequenos animais. **Semina: Ciênc. Agrárias**, Londrina, v. 35, n.1, p. 393-410, jan/fev. 2014.

GARCIA J.L.; NAVARRO I.T.; OGAWA L. & OLIVEIRA R.C. 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**. 29: p.91-97, 1999.

GERMANO, P. M. L. Toxoplasmose nas espécies felina e canina. **A Hora Veterinária**. vol. 4, n.23, p. 22-24, 1985.

GIRALDI, J. H.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E. A.; NAVARRO, I. T.; BATISTA, T. N. Sorologia e histopatologia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães portadores de distúrbios neurológicos. **Semina**, v. 23, n. 1, p. 9-14, 2002.

GIRÃO, L. C. F. **Estudo anatomopatológico da toxoplasmose canina em Belo Horizonte (MG)**. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1975.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**, v.34, p.159-161, 2004.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 33-39, 2005.

GONÇALEZ, C.C.; PAES, A.C.; LANGONI, H.; DA SILVA, R.C. GRECA, H.; CAMOSSO, L.G.; GUIMARÃES, F.F.; ULLMANN, L.S. Anticorpos para *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães errantes albergados em canil privado. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.62, n.4, p.1011-1014, 2010

GRAÇA, D.L.; ALESSI, A.C.; ECCO, R.; VIOTT, A.M.de. Patologia do sistema nervoso. In: Santos, R. LIMA. de.; ALESSI, A.C. **Patologia veterinária**. São Paulo: Roca, 2010. Cap. 8. p. 589-591.

HASS, J. A.; SHELL, L.; SUNDERS, G. Neurologic manifestations of toxoplasmosis: a literature review and case summary. **Journal of American Animal Hospital Association**, Lakewood, v.5, p.253, 1989.

HEMPHILL, A., GOTTSTEIN, B., KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. **Parasitology**, v.112, p.183-197, 1996.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; de MEERSCHMAN, F.; ELLIS, J.T.; INNES, E.A.; McALLISTER, M.M; ORTEGA-MOURA, L.M.; TENTER, A.J.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; WILLIAMS, D.J.L.; WOUDA, W. A European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 877-924, 2000.

HILL, D.E., LIDDEL, S., JENKINS, M.C., DUBEY, J.P. Specific detection of *Neospora caninum* oocysts in fecal samples from experimentally-infected dogs using the polymerase chain reaction. **The Journal of Parasitology**, v. 87, p. 395-398, 2001.

HILL, D. E.; DUBEY, J. P. Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 8, p. 634-640, 2002.

HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, p. 41-61, 2005.

HURCOVÁ, L.; MODRY, D. PCR detection of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Encephalitozoon cuniculi* in brains of wild carnivores. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 150-154, 2006.

ISHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D.F. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de cães no município de São Paulo. **Ver. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. São Paulo**, 11: 115-25, 1974.

JARDINE, J.E.; DUBEY, J.P. Canine neosporosis in South África. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.291-294, 1992.

JESUS, E. E. V., BARBOSA, M. V. F., PINHEIRO, A. M.GONDIM, L. F. P., GUIMARÃES, J. E., ALMEIDA, M. A. O. Inquérito sorológico do *Neospora caninum* em cães errantes da cidade de Salvador –Bahia. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 28, 2002, Salvador, **Anais...Salvador, Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, 2002, 273 p.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6^a ed, 2000, 565-570 p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11^a ed. São Paulo: Atheneu, p. 163-172, 2005.

KING, J. S.; ŠLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL-QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Nova Iorque, v.40, n. 8, p. 945-950, jul. 2010. doi:10.1016/j.ijpara.2010.01.008

KÜHN, D.; OPPERMANN, W. H.; RÖDEL, H.; CENTURIER, H. Experimentelle infektion von Hunden mit *Toxoplasma* – **Oozysten**. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v.85, n.16, p.309-314, 1972.

LAPPIN, M. R. Feline Toxoplasmosis raises health concerns for humans. **DVM Newsmagazine**, Boulevard, v. 14, n. 3, p. 40-43, june, 2002.

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

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

LANGONI, H. **Doenças ocupacionais em avicultura**. In: ANDREATTI FILHO, R. L. Saúde aviária e doenças. Sao Paulo: Roca, 2006. p. 52-60.

LeCOUTEUR, R. A.; GRANDY, J. L. Diseases of thespinal cord. IN: ETTINGER, J. P. (Ed.). **Textbook of veterinary internal medicine**. 5Th ed. Philadelphia: Saunders, Cap.106, p.608-657, 2000.

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, D.; MERINPELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY,G.; SPRAGUE, V.; VAVRA J. & WALLACE F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal Protozoology**. 27: 37-58, 1980.

LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.;DUBEY, J. P. A structural study of the Neospora caninum oocyst. **Int J Parasitol**, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 82, n. 4, p. 327-333, maio 1999. doi: 10.1016/S0304-4017(99)00054-0

LINDSAY, D. S.; COLLINS, M. V.; MITCHELL, S. M.; COLE, R. A.; FLICK, G. J.; WETCH, C. N.; LINDQUIST, A.; DUBEY, J. P. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. **The Journal of Eukaryot Microbiology**, v. 50, p. 687- 688, 2003.

LOCATELLI-DITTRICH, R. ; SOCCOL, V.T.; RICHARTZ, R.R.T.B.; GASINOJOINEAU, M.E.; VINNE, R.; PINCKNEY, R.D. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in Southern Brazil. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n.6, p. 1493-1494. 2001.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; MACHADO, P.C.JR.; PUGGLE, N.F.; RICHARTZ, R.R.T.B.; FERREIRA, F.M; PATRÍCIO, L.F.L.; PATRÍCIO, M.A.C.; JOINEAU, M.G.; PIEPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 17, Supl. 1, p.191-196, 2008.

LOBATO, J.; SILVA, D.A.O.; MINEO, W.P. et al. Detection of Immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clin. Vaccine Immunol.*, v.13, p.84-89, 2006.

MARCONDES, M.; DAGLI, M.L.Z.; IWAZAKI, M.; PRADA, I.L, S. de. Hidrocefalia congênita em cão: Revisão de literatura e relato clínico. **Braz. J. vet. Res. am m .Sci.**, Sio Paulo, v.29, n.1, p.105-12, 1992.

MARTIN, C. L.; STILES, J. Ocular Infections. In: GREENE, C. E. infectious diseases of the dog and cat. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998. cap. 93, p.658-72, 1998.

MARTINS, C. S.; VIANA, J. A. Toxoplasmose o que todo profissional de saúde deve saber. *Clínica Veterinária*, v. 15, p. 33-37, 1998.

MARSH, A.E., BARR, B.C., PACKHAM, A.E., CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *The Journal of Parasitology*, v. 84, p. 983-991, 1998.

MAUBON, D. et al. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis? **Trends in Parasitology**, Oxford, v.24 n. 7, p.299-303, jul.2008.

McALLISTER, M.M.; HUFFMAN, E.M.; HIETALA, S.K.; CONRAD, P.A.; ANDERSON, M.L.; SALMAN, M.D. Evidence suggesting a point source exposure inna outbreak of bovine abortion due to neosporosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, p. 355-357, 1996.

McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; McGUIRE, A. M. Dogs are the definitive host of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

McALLISTER, M.M.; BJÖRKMAN, C.; ANDERSON-SPRECHER, R.; ROGERS, D.G. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 217, p.881-887, 2000.

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

MORETTI, L. et al. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, jan./jun. 2002, p. 85-91.

MOURA, A.B.; SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E.B.; PISETTA, G.M.; HEUSSER, JUNIOR, A. Ocorrência de Anticorpos e Fatores de Risco para infecção por *Toxoplasma gondii* em cães, nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.18, n.3, p.52-56, 2009.

MENEZES, R.de.C.A.de. Coccídios. In: MONTEIRO, S.G. Parasitologia na medicina veterinária. São Paulo: Roca, cap. 15, p. 149-151, 2010.

MUGRIDGE, N.B.; MORRISON, D.A.; HECKEROTH, A.R.; JOHNSON, A.M.; TENTER, A.M. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, v.29, p.1545-1556, 1999.

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. São Paulo: Editora Atheneu, Capítulo 25. p. 177, 188. 2003.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. São Paulo: Editora Atheneu, p. 494, 2005.

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**. 12: 145-149, 2003.

NETO, V.A.; MARCHI, C.R.de. Toxoplasmose. In:
CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia
humana e seus fundamentos gerais**. 2ª ed. São
Paulo: Editora Atheneu, p. 159-178, 2003.

NORSWORTHY, G.D. Toxoplasmose. In:
NORSWORTHY, G. D.; CRYSTAL, M. A.;
GRACE, S. F.; TILLEY, L. P. **O Paciente Felino**.
2ed., Barueri: Manole, p.554-557, 2004.

PARÉ, J.; HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C.;
Interpretation of na fluorescente antibody test for
diagnostics of neosora sp infection in cattle. **Journal
of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p. 273-
275, 1995.

PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.;
MARSOLAIS, G. Seroepidemiology study of
Neospora caninum in dairy herds. **Journal of the
American Veterinary Medical Association**, v. 213,
p. 1595-1598, 1998.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.321-334, 2001.

REZENDE, P. C. B., BELO, M. A. A., SOUZA, L. M., SILVEIRA, D. M., COSTA, A. J. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães do município de Jaboticabal, SP, Brasil. In: **SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, 11, 1999, Salvador, Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p.229, 1999.

SCHARES, G., HEYDORN, A.O., CÜPPERS, A., CONRATHS, F.J., MEHLHORN, H. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. **Parasitology Research**, v. 87, p. 808-816, 2001.

SCHLATTER, D. **Hidrocefalia fetal grave: Achados ultra-sonográficos pré-natais e seguimento até o 1º ano de vida**. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

SIBLEY, L.D.; BOOTHRYD, J.C. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. **Nature**, London, v. 359, n. 6, p. 82-85, 1992.

SILVA, M.C.; FIGHERA, R.A.; JULIANA, S.; GRAÇA D.L.; KOMMERS GD., IRIGOYEN LF., BARROS CS. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães: Clinicopathological features in 620 neurological cases of canine distemper. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27, 5, 215-220, 2007.

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

SLAPETA, J.R.; MODRÝ, D.; KYSELOVÁ, I.; HOREJS, R.; LUKES, J.; KOUDELA, B. Dogs shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenic approach. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 157-167, 2002.

STERNBERGER, L.; HARDY, P.H.; CUCULIS, J.J.; MEYER, H.G. The unlabeled antibody method of imunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen antibody complex (Horseradish peroxidase anti horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. **J Histochem Cytochem** 18: 315, 1970.

SPEER, C.A., Comparative ultrastruture of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma goldii*. **International Journal for Parasitology**, v.29, e.1509-1519, 1999.

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**. 14: 314-320, 1972.

SOUZA, S.L.P.; RAGOZO, A.M.A.; GUIMARÃES, J.S.; FERREIRA, F. & GENNARI, S.M. Prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em cães de propriedades produtoras de leite B da região Norte do Estado do Paraná. **Jornal Brasileiro de Patologia**. 37: 46, 2001.

SWANGO, L. J., BANKEMPER, K. W., KONG, L. I. Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais, e outras. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo. Ed. Manole Ltda. 3ª ed., vol. 1. 1992.

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

TENTER, A.M.; JOHNSON, A.M. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidian. **Advances in Parasitology**, v.39, p.69-139, 1997.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, Parkville, v. 30, n. 12/13, p.1217-1258, 2000.

TENTER, A. M; A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, Lawrences v.30, n.12-13, p. 1217-1258, 2000. Review: Erratum in: **International Journal for Parasitology**, Lawrences, v.31, n.2, p. 217-220, 2001.

TREES, A.J.; WILLIAMS, D .J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v.21, n.12, p.558-561, 2005.

RAGOZO, A. M. A.; AZEVEDO, S. S.; VASCONCELLOS, S. A.; BATISTA, C. S. A.; AGUIAR, D. M.; RODRIGUES, A. A. R.; ALVES, C. J.; GENNARI, S. M. *Toxoplasma gondii* em cães na cidade de Campina Grande, Paraíba: soroe epidemiologia e fatores de risco. In: **Congresso brasileiro de parasitologia veterinária**, 13., 2004, Ouro Preto. Anais... Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p.217, 2004.

UGGLA, A.; DUBEY, J.P.; LUNDMARK, G.; OLSON, P. Encephalomyelitis and myositis in a boxer puppy due to a *Neospora*-like infection. **Veterinary Parasitology**, 32. p. 225-260, 1989.

URQUHART, J.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.;
DUNN, A.; JENNING, F. **Parasitologia veterinária**.
Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, p. 247-250,
1990.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.
L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia
Veterinária**. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara
Koogan, 1996.

VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T.; GIRALDI, N.;
MITSUKA, R. & FREIRE, R.L. Estudos
epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região
de Londrina - PR. **Semina: Ciências Agrárias**. 11:
53-59, 1990.

VIDOTTO O. Toxoplasmose: epidemiologia e
importância da doença na saúde animal. **Semina:
Ciências Agrárias**.13:69-75,1992.

VIOTTI, N.M.A.; FREIRE, R.L.; NAVARRO, I.T.;
VIDOTTO, O. Avaliação das técnicas de
Hematoxilina-Eosina, imunofluorescência e
peroxidase anti-peroxidase no diagnóstico post-
mortem da Toxoplasmose suína. **Semina Cienc Agric**
16: 107-1141,1995.

ZACHARY, J.F. Sistema nervoso. In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**, 5ed. (tradução). Rio de Janeiro: Elsevier, Cap. 14, p. 774-873, 2009.