

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA COINFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* E PELO
VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*)
EM GOIÂNIA, GOIÁS**

Rebeka Cristine de Bastos Costa
Orientador: Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme

GOIÂNIA
2015



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ Dissertação ☐ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Rebeka Cristine de Bastos Costa** E-mail: **bekacbc@hotmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento:

País: UF: CNPJ: Sigla:

Título: **ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA COINFEÇÃO POR Toxoplasma gondii E PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS (Felis catus) EM GOIÂNIA, GOIÁS** Palavras-chave: **AIDS felina, ELISA indireto, hemaglutinação indireta, PCR convencional, toxoplasmose**

Título em outra língua: **EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF THE COINFECTION BY Toxoplasma gondii AND BY THE FELINE IMMUNODEFICIENCY VIRUS IN DOMESTIC CATS (Felis catus) IN GOIÂNIA, GOIÁS**

Palavras-chave em outra língua: **conventional PCR, feline AIDS, frequency, indirect ELISA, toxoplasmosis**

Área de concentração: **Sanidade animal, higiene e tecnologia de alimentos** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **25/08/2015**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme** E-mail: **valeria.mg@uol.com.br**

Co-orientador(1): **Prof. Dr. Guido F. Coelho Linhares** E-mail: **guido_linhares@ufg.br**

Co-orientador(2): **Profa. Dra. Andréa C. da Silva** E-mail: **andrea@iptsp.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 28 de outubro de 2015

Rebeka Cristine de Bastos Costa
Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

REBEKA CRISTINE DE BASTOS COSTA

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA COINFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* E PELO
VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*)
EM GOIÂNIA, GOIÁS**

Dissertação apresentada para obtenção do grau
de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de
Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal
de Goiás

Área de Concentração

Sanidade animal, higiene e tecnologia de
alimentos

Orientadora

Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme – EVZ/UFG

Comitê de Orientação

Prof. Dr. Guido F. Coelho Linhares – EVZ/UFG

Profa. Dra. Andréa C. da Silva – EVZ/UFG

GOIÂNIA

2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Costa, Rebeka Cristine de Bastos
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA COINFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* E PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) EM GOIÂNIA, GOIÁS [manuscrito] / Rebeka Cristine de Bastos Costa. - 2015.
xii, 45 f.: il.

Orientador: Prof. Valéria de Sá Jayme; co-orientador Guido Fontgalland Coelho Linhares; co-orientador Valéria de Sá Jayme.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2015.

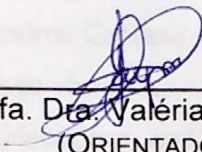
Bibliografia.

Inclui gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

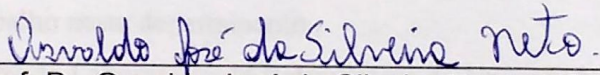
1. AIDS felina. 2. ELISA indireto. 3. hemaglutinação indireta. 4. PCR convencional. 5. toxoplasmose. I. Jayme, Valéria de Sá, orient. II. Linhares, Guido Fontgalland Coelho, co-orient. III. Título.

Rebeka Cristine de Bastos Costa

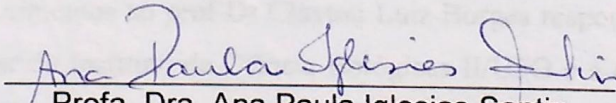
Dissertação defendida e aprovada em **25/08/2015**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dra. Valéria de Sá Jayme
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Osvaldo José da Silveira Neto - UEG



Prof. Dra. Ana Paula Iglesias Santin

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por ter me dado força para chegar até o final de mais uma etapa de estudos e também à minha família e a meu namorado que foram essenciais ao andamento e conclusão de tal fase; sem eles eu não conseguiria alcançar os meus objetivos.

À minha querida orientadora, prof. Dr Valéria de Sá Jayme devo os mais sinceros agradecimentos, pois ela sempre me orientou, aconselhou e ajudou nos momentos de aflição e dúvidas, o que foi fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu coorientador, prof Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares, que sempre esteve prestativo a esclarecer e aconselhar sobre pontos primordiais ao desenvolvimento deste projeto, e à minha coorientadora prof Dr. Andréa Caetano da Silva que também foi um dos pilares no desenrolar deste trabalho, devo o meu obrigada.

Deixo registrado aqui o meu agradecimento ao Dr. Osvaldo José da Silveira Neto e à toda a equipe técnica do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG), em especial a Winder Macusuel Borges de Oliveira e a Heleonilson Luiz Luzini, os quais dividiram comigo seus conhecimentos e alguns dias de trabalho neste departamento.

Agradeço a toda à equipe do Laboratório de Retrovíruses da Universidade Federal de Minas Gerais, em especial ao prof Dr Jenner Karlisson Pimenta dos Reis, que aceitou a parceria técnico-científica, o que proporcionou importantes resultados para esta pesquisa.

Deixo os meus agradecimentos ao prof Dr Clayton Luiz Borges responsável pelo Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas II/UFG e à doutoranda Vanessa Rafaela Milhomem Cruz Leite que se prontificaram a me auxiliar em parte da leitura e documentação das reações em cadeia da polimerase.

Agradeço à prof Dr Maria Lúcia Gambarini Meirinhos que cedeu parte do laboratório do Setor de Reprodução Animal para que fosse realizado este projeto. Também devo agradecimentos aos representantes da secretaria do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal/EVZ/UFG: prof Dr. Eugênio Gonçalves de Araújo, prof Dr Cíntia Silva Minafra e Rezende e à secretária Andréia Oliveira de Santana, que se prontificaram a me orientar e aconselhar na parte burocrática e financeira deste projeto.

Serei sempre grata ao Rogério de Moura que me forneceu ajuda ESSENCIAL, pois sem a adaptação que ele fez em uma das gaiolas de captura metade das amostras que foram analisadas não fariam parte dos meus resultados. Agradeço também ao prof Dr

Emmanuel Arnhold, pois com a sua orientação pude fazer as análises estatísticas dos meus resultados.

Agradeço a toda equipe do Hospital Veterinário/EVZ/UFG em especial aos Drs. Danieli Brolo Martins, Luiz Augusto de Souza, Leandro Guimarães Franco e Paulo Henrique Jorge da Cunha, e aos técnicos Edivalson Vieira da Costa e Gracielly Borges, pois cada um foi importante na realização de parte desta pesquisa. Sem esquecer dos proprietários de cada animal que confiaram a mim as análises das amostras de seus gatos. Um imenso obrigada a cada residente do Hospital Veterinário/EVZ/UFG, que durante todo o período de coleta cederam um minuto do seu dia para me ajudar.

Devo agradecer a cada um da equipe do Departamento de Vigilância e Controle de Zoonoses e das Organizações Não Governamentais de Goiânia-Goiás que aceitaram que os animais que estavam sob a sua responsabilidade pudessem ser integrados a esta pesquisa.

Agradeço também aos meus colegas de pós-graduação que estiveram comigo durante toda a caminhada de aprendizado teórico-científico, obrigada por compartilharem comigo os momentos dentro e fora da sala de aula.

Não tenho palavras para agradecer os que estiveram comigo, em momentos ímpares, nas mais variadas situações como coleta de amostras e cuidados diários com os gatos confinados. Deixo aqui registrado o meu profundo agradecimento a cada uma que esteve presente nestes momentos, à Sebastiana Adriana Pereira Sousa, Allana Ferreira do Nascimento, Aryadyne Araújo, Flávia Duarte de Jesus, Liz Txucarramae, Luciana Araújo, Marcela Arantes, Jaqueline Andrade Ribeiro da Silva, Káren Cristina de Oliveira Bastos, Thamara Venâncio de Almeida, Verônica Amaral. Em especial, agradeço à Laura Garcia e Thawanne Delefrate, que estiveram comigo em praticamente todas as coletas de sangue e dividiram os mais emocionantes momentos da pesquisa; sem vocês eu não teria conseguido.

Porém, os principais atores desse trabalho não conseguirão ler aqui os meus agradecimentos, mesmo assim deixo registrado que sou eternamente grata a cada gato, que mesmo que tivesse de ter sido contido por sedativo, cedeu parte do seu material biológico para que eu pudesse avaliá-lo.

Por fim agradeço ao animal da espécie *Homo sapiens sapiens* que teve a capacidade de abandonar um gato deficiente e doente na Escola de Veterinária e Zootecnia/UFG. Por meio deste ato cruel tenho hoje a oportunidade de conviver com um lindo e amável *Felis catus*, conhecido por Kiko.

OBRIGADA.

“Não há nada que não se consiga com a força de vontade, a bondade, e principalmente, com o amor.”

Marco Túlio Cícero

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. <i>Toxoplasma gondii</i>	2
2.1.1. Ciclo biológico	2
2.1.2. Patogenia	4
2.1.3. Aspectos epidemiológicos	5
a) Ocorrência em gatos domésticos (<i>Felis catus</i>)	6
b) Importância epidemiológica dos oocistos	7
2.1.6. Diagnóstico	9
c) Diagnóstico sorológico	10
d) Diagnóstico para a detecção de oocistos	10
2.1.7. Controle e prevenção da toxoplasmose felina	12
2.2. Vírus da imunodeficiência felina	12
2.2.1. Epidemiologia	13
2.2.2. Transmissão, patogenia e sinais clínicos	14
2.2.3. Diagnóstico	15
2.2.4. Controle e prevenção	16
2.3. Gatos coinfectados pelo <i>Toxoplasma gondii</i> e pelo vírus da imunodeficiência felina	17
3. OBJETIVOS	19
3.1. Objetivo geral	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1. Local e período de realização	20
4.2. Grupo de gatos utilizados no estudo	20
4.3. Coleta de material	21

	x
4.4. Hemaglutinação indireta para detecção de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	23
4.5. ELISA indireto para o diagnóstico do vírus da imunodeficiência felina	23
4.6. Preparação do material fecal e extração de DNA.....	23
4.7. Ensaio da reação em cadeia da polimerase	25
4.8. Leitura e documentação das reações em cadeia da polimerase	25
4.9. Análise estatística	26
5. RESULTADOS	27
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS	40

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Ciclo biológico do <i>Toxoplasma gondii</i>	3
FIGURA 2 - Oocistos não esporulados de <i>Isospora felis</i> (A), <i>Isospora rivolta</i> (B) e <i>Toxoplasma gondii</i> (C), em comparação com esporocisto esporulado de <i>Sarcocystis muris</i> (D). Ampliação de 1600 x.....	11
FIGURA 3 – Gengivite (seta pequena) e estomatite (setas grandes) em gato positivo para o vírus da imunodeficiência felina.	15
FIGURA 4 - Avaliação da dentição de gatos para a estimativa da idade. A. Destaque para a troca dos dentes incisivos (setas pequenas), demonstrava idade média de três meses. B. Presença de dentes molares (seta grande), animal classificado com idade igual ou superior a seis meses.....	21
FIGURA 5 - Captura e manutenção de gato oriundo do Campus Samambaia/UFG. A. Gato capturado com gatoeira. B. Gato mantido em gaiola com água, ração e caixa de areia, destaque para a identificação numérica, com data da captura e indicação do peso corporal, no canto inferior direito.....	22
FIGURA 6 - Extratos fecais de diferentes amostras, após os processos de lavagem, flutuação e rompimento em nitrogênio líquido, os quais foram submetidos à extração de DNA.	24
FIGURA 7 - Distribuição dos títulos de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em <i>Felis catus</i> de Goiânia-Goiás frente a hemaglutinação indireta, 2015.....	28
FIGURA 8 - Distribuição dos títulos de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em <i>Felis catus</i> de Goiânia-Goiás, obtidos com o teste de hemaglutinação indireta, de acordo com o gênero e a idade, 2015.....	29
FIGURA 9 - Distribuição dos títulos de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em <i>Felis catus</i> de Goiânia-Goiás, obtidos com o teste de hemaglutinação indireta, de acordo com o estilo de vida livre e o não livre, 2015.....	29

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Resultados sorológicos encontrados em <i>Felis catus</i> de diferentes cidades brasileiras e possíveis fatores associados à infecção pelo <i>Toxoplasma gondii</i> em cada população pesquisada.....	7
QUADRO 2 - Resultados sorológicos encontrados em <i>Felis catus</i> positivos para o <i>Toxoplasma gondii</i> e a frequência de oocistos deste protozoário em suas fezes.	9
QUADRO 3 - Resultados encontrados em <i>Felis catus</i> de diferentes regiões do Brasil, com variados testes e fatores associados à infecção pelo vírus da imunodeficiência.....	13
QUADRO 4 - Resultados encontrados para o <i>Toxoplasma gondii</i> e o vírus da imunodeficiência em <i>Felis catus</i> de diferentes regiões do mundo, com possível coinfeção entre os patógenos e a eliminação de oocistos nas fezes dos animais avaliados.	18

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Frequência encontrada pelo método de hemaglutinação indireta para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos da microrregião de Goiânia-Goiás e sua distribuição de acordo com a idade, gênero e estilo de vida dos animais.	27
TABELA 2 - Frequência de gatos de Goiânia-Goiás positivos frente ao ELISA indireto para o vírus da imunodeficiência felina, e sua distribuição de acordo com a idade, gênero e estilo de vida dos animais.....	30
TABELA 3 - Número de gatos de Goiânia-Goiás positivos e negativos para os testes de hemaglutinação indireta para o <i>Toxoplasma gondii</i> e ELISA indireto para o vírus da imunodeficiência felina e a avaliação estatística pelo qui-quadrado e a <i>odds ratio</i>	31
TABELA 4 – Avaliação estatística, pela regressão logística multivariada, entre os resultados da hemaglutinação indireta para o <i>Toxoplasma gondii</i> e do ELISA indireto para o vírus da imunodeficiência felina, com resultados apresentados pela <i>odds ratio</i> para as variáveis: vida livre e idade igual ou superior a seis meses.	31

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose na qual, mamíferos e aves podem participar do seu ciclo como hospedeiros intermediários e os felídeos como hospedeiros definitivos. O *Felis catus* é reconhecido como o principal responsável pela contaminação ambiental por oocistos de *Toxoplasma gondii*. O diagnóstico sorológico pouco revela sobre a eliminação de tal fase no ambiente, o que representa o real impacto daquela espécie na Saúde Pública frente à toxoplasmose. São escassos os dados da frequência da toxoplasmose felina no Estado de Goiás. Assim sendo, objetivou-se com esta pesquisa avaliar a frequência da infecção da toxoplasmose em gatos domésticos e o seu potencial papel na sua transmissão, através da eliminação de oocistos no ambiente e dos respectivos fatores associados à infecção. Para isto, foram coletadas 102 amostras de sangue e 98 amostras fecais, de 102 gatos provenientes de Goiânia-Goiás. Os animais foram divididos em grupos de acordo com a faixa etária, gênero e livre acesso à rua ou não. Foi realizada a hemaglutinação indireta para a determinação do nível de anticorpos anti-*T. gondii* e o ELISA indireto para a detecção da infecção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV). Para a pesquisa e detecção da eliminação de oocistos de *T. gondii* nas fezes dos gatos foi feita a centrifugo-flutuação em solução de *Sheather*, posterior extração de DNA e realização da PCR convencional. Os resultados revelaram que 18,63% (19/102) dos gatos foram positivos para o *T. gondii*, com títulos variando entre 1:32 a 1:8.192, sendo que nenhuma das amostras fecais foi positiva na PCR. A frequência de positivos para o FIV foi de 55,91% (52/93), com coinfeção de 18,28% (17/93). Com a regressão logística multivariada verificou-se que os fatores associados foram os mesmos para as duas infecções, porém uma não interferiu diretamente na outra. Os fatores associados para a infecção pelo *T. gondii* e pelo vírus da imunodeficiência felina foram a vida livre e a idade igual ou superior a seis meses, já o gênero não apresentou relação estatística com nenhuma das enfermidades.

Palavras-chave: AIDS felina, ELISA indireto, hemaglutinação indireta, oocisto, PCR convencional, toxoplasmose.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonotic disease in which mammals and birds can join the cycle as intermediate hosts, and felids as definitive hosts. *Felis catus* is recognized as the main responsible for the environmental contamination by *Toxoplasma gondii* oocysts. Serological diagnosis reveals little about the elimination of oocysts of *T. gondii* into the environment, principally by *F. catus*, which plays an important role in Public Health. There are few data on the frequency of feline toxoplasmosis in the State of Goiás. Therefore, the aim of this research was to evaluate the frequency of toxoplasmosis infection in domestic cats and their potential role in its transmission through the oocyst elimination into the environment and the respective factors associated with the infection. For this, we collected 102 blood samples and 98 fecal samples from 102 cats from Goiânia, State of Goiás. The animals were divided into groups according to age, gender and free access to the street or not. Indirect hemagglutination test was performed to determine the level of anti-*T. gondii* and indirect ELISA for the detection of infection by feline immunodeficiency virus (FIV). For search and detection of *T. gondii* oocysts elimination in the feces of cats we performed a centrifugal-flotation with Sheather's solution, subsequently we extracted DNA and used conventional PCR. The results showed that 18.63% (19/102) of the cats were positive for *T. gondii*, with titers ranging from 1:32 to 1: 8.192, while none of the fecal samples were positive in the PCR. The frequency of positive animals for FIV was 55.91% (52/93), and 18.28% (17/93) presented coinfection. By multivariate logistic regression we found the associated factors were the same for both infections, but one did not interfere with another. The factors associated with infection by *T. gondii* and feline immunodeficiency virus were free life and age under six months, since the sex was not statistically related to any of the illnesses.

Key words: conventional PCR, feline AIDS, indirect ELISA, indirect hemagglutination, oocyst, toxoplasmosis

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita, causada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário intracelular obrigatório, capaz de infectar e se replicar em qualquer célula nucleada dos seus hospedeiros intermediários, mamíferos e aves. Seus hospedeiros definitivos são os membros da família dos felídeos, como o gato doméstico (*Felis catus*)¹.

Destacando-se tanto na medicina quanto na Medicina Veterinária, a toxoplasmose, pode causar aborto ou doença congênita em seus hospedeiros intermediários. Devido à sua grande importância como agente causador de zoonose, o *T. gondii* tem sido, dentre os coccídeos, o mais intensamente estudado².

A infecção está difundida nos animais em todo o mundo, estima-se que 90% dos animais domésticos e silvestres brasileiros apresentem anticorpos para o protozoário³. Dubey et al.³, em sua revisão sobre a toxoplasmose, realizada no Brasil, destacou que pouco se sabe sobre a frequência deste patógeno em gatos no país.

Por serem hospedeiros definitivos desse protozoário, os gatos, na maioria das vezes são assintomáticos. Ressalta-se que o vírus da imunodeficiência felina (FIV), um agente imunossupressor, em conjunto com a toxoplasmose pode levar o *Felis catus* a desenvolver sintomas clínicos, como pneumonia e ocasionar o óbito¹.

Por outro lado, felinos duplamente infectados por *T. gondii* e FIV apresentam soroprevalência mais elevada para toxoplasmose, além do desenvolvimento agudo da doença com possível reelimação de oocistos nas fezes dos hospedeiros definitivos. Este fenômeno é raro em gatos naturalmente infectados, pois poucos são os relatos de toxoplasmose fulminante em gatos com FIV¹.

Já foram avaliados como outros fatores associados à infecção da toxoplasmose em gatos domésticos a idade, gênero e vida livre. Por conseguinte, quanto maior o número de gatos infectados por bradizoítos presentes em roedores e aves, maior a chance de eliminação de oocistos, que quando esporulados podem contaminar alimentos e água, o que aumenta a chance da infecção humana pelo *T. gondii*¹.

Diante disto, objetivou-se com a realização deste trabalho avaliar a frequência de anticorpos anti-*T. gondii*, bem como a coinfeção pelo vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos (*Felis catus*) do município de Goiânia-Goiás e avaliar os possíveis fatores associados às infecções e verificar a possibilidade de eliminação de oocistos do *T. gondii* nas fezes destes animais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Toxoplasma gondii*

O *Toxoplasma gondii* foi descrito pela primeira vez em roedores, em 1908, na Tunísia, África, e no mesmo ano foi encontrado em São Paulo, Brasil. Seu nome é derivado da sua morfologia, *toxos* = arco, *plasma* = forma e por ter sido descoberto em um roedor da região do Gundi⁴. É pertencente ao filo Apicomplexa, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Toxoplasma*, sendo o único representante deste¹.

Em humanos, a descrição do *T. gondii* ocorreu em 1923³. Porém, somente em 1942, a toxoplasmose foi detectada em gatos e em 1967, foi demonstrado que o protozoário, pode ser contraído pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes dos felídeos. A descoberta destes como hospedeiros definitivos, em 1970, levou a elucidação do ciclo biológico completo da toxoplasmose. Assim, o *T. gondii* é um coccídeo que tem os felídeos como hospedeiros definitivos e os animais de sangue quente como hospedeiros intermediários⁴.

2.1.1. Ciclo biológico

Tal protozoário possui ciclo de vida heteroxeno (figura 1), apresenta fase assexuada de desenvolvimento em vários tecidos dos carnívoros, herbívoros, onívoros; e a fase de desenvolvimento sexuada ocorre no intestino de felídeos².

Três fases distintas e infecciosas para ambos os tipos de hospedeiros estão presentes: taquizoítos, bradizoítos (cistos tissulares) e esporozoítos (oocistos)⁵. Os hospedeiros podem adquirir a toxoplasmose por diferentes vias, como a horizontal, por ingestão oral de oocistos esporulados no ambiente, que podem contaminar água, vegetais, frutas e já foi demonstrada a transmissão por vetores mecânicos¹.

A transmissão também pode ocorrer pela ingestão de cistos tissulares presentes na carne crua ou mal cozida; ou verticalmente, por transmissão transplacentária de taquizoítos. Estes ainda podem ser transmitidos pelo leite, da mãe para o filho, ou por transplante de sangue ou órgãos. Quando hospedeiros definitivos contaminam-se após a ingestão de qualquer uma das três fases, a forma infectante penetra no epitélio intestinal e se multiplica por endodiogenia e são originados vários merozoítos¹.

Os merozoítos se formam no interior de vacúolos parasitóforos, podendo romper as células epiteliais e infectar outra de mesma origem. No epitélio intestinal os merozoítos originarão as formas sexuais, os microgametas e os macrogametas, caracterizando a fase

sexuada do ciclo enteroepitelial. Sendo que os microgametas abandonam a célula de origem e fecundam os macrogametas no interior de uma célula epitelial, originando o zigoto¹.

Ainda no epitélio, o zigoto evolui para oocisto, este é liberado imaturo junto com as fezes. No meio ambiente, entre um a cinco dias, em condições adequadas de temperatura e pressão, o oocisto esporula-se sofrendo maturação, sendo então infeccioso aos hospedeiros e contendo em seu interior dois esporocistos com quatro esporozoítos cada, os quais são infectantes¹.

A fase assexuada ocorre quando hospedeiros intermediários suscetíveis se infectam com qualquer uma das três fases mencionadas⁶. Após a esporulação dos oocistos no ambiente, caso sejam ingeridos, ocorrerá a excistação, na presença de sais biliares e da tripsina, o que leva à ruptura dos esporocistos e liberação dos esporozoítos, os quais penetram nos enterócitos e a partir daí são denominados de taquizoítos⁵.

Os taquizoítos podem invadir vários tipos de células do organismo formando um vacúolo parasitóforo e se multiplicarem rapidamente por endodiogenia nas diferentes células nucleadas do hospedeiro, o que caracteriza a fase aguda da infecção. A última geração de taquizoítos forma os bradizoítos, os quais também se reproduzem por endodiogenia só que se desenvolvem lentamente em cistos tissulares, o que caracteriza a doença crônica¹.

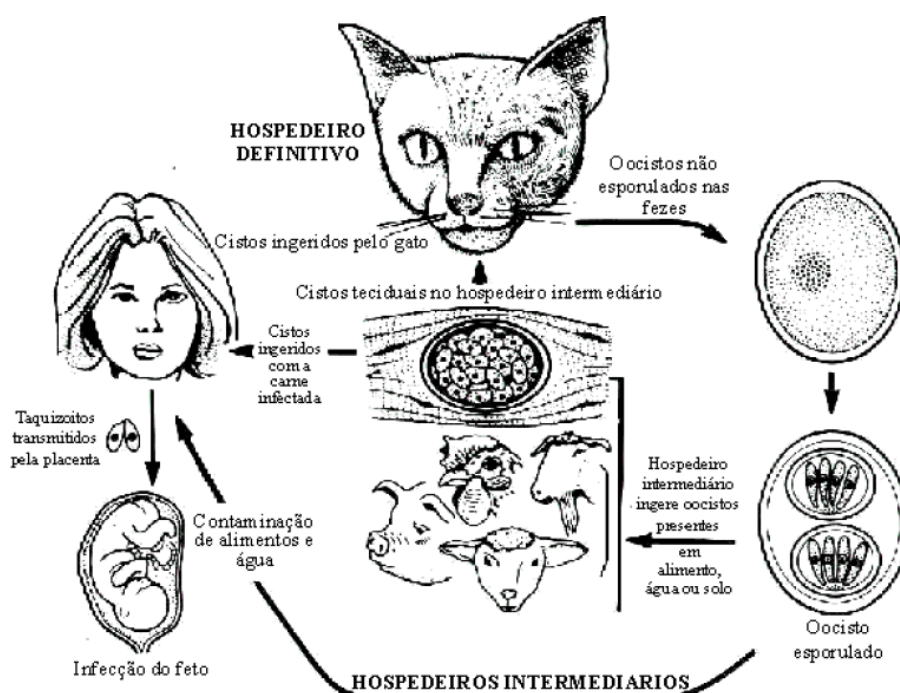


FIGURA 1 - Ciclo biológico do *Toxoplasma gondii*.
Fonte: Adaptado de Dubey¹.

2.1.2. Patogenia

Caso os esporozoítos dos oocistos esporulados sejam ingeridos ou haja ingestão de carne crua ou mal passada contendo taquizoítos ou bradizoítos, ocorrerá a penetração do parasita pelos enterócitos, atingindo a corrente sanguínea e posterior infecção de qualquer célula nucleada. Nesta ocorre a multiplicação da fase infectante do parasita, o que leva a destruição celular, o que caracteriza a fase proliferativa ou aguda da toxoplasmose¹.

Os taquizoítos possuem tropismo por tecidos do sistema nervoso central, como o ocular, bem como músculos cardíacos e esqueléticos, onde podem se alojar e transformarem-se em bradizoítos, dentro dos vacúolos parasitóforos. No entanto, estes podem ser encontrados em órgãos viscerais, como pulmões, fígado e rins¹.

Quando a infecção ocorre em humanos geralmente é assintomática, mas podem ocorrer sinais clínicos como linfadenopatia e alterações oculares, levando à cegueira⁷. A toxoplasmose adquirida após o nascimento é, geralmente, menos grave do que a infecção pré-natal. Entretanto, caso a infecção materna seja adquirida antes da gestação, há pouco ou nenhum risco para o feto⁸.

Na toxoplasmose congênita, que pode ocorrer quando a mulher torna-se infectada durante a gravidez, a parasitemia provoca placentite seguida por propagação de taquizoítos para o feto⁸, caracterizando a transmissão vertical⁷. Destaca-se que quando mulheres, já gestantes, são infectadas pela primeira vez pelo *T. gondii*, a chance do filho desenvolver a toxoplasmose congênita clínica é aumentada. Já a infecção subclínica dessa enfermidade, em recém-nascidos, pode passar despercebida ou o bebê desenvolverá hidrocefalia ou microcefalia⁹.

Ainda, em contraste com a evolução favorável da infecção pelo *T. gondii* na maioria dos indivíduos, a situação pode ser fatal naqueles que estão imunocomprometidos, como no caso de pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Destaca-se que nestes, a toxoplasmose quase sempre ocorre como resultado da reativação da infecção crônica, sendo que o sistema nervoso central é o local mais comumente afetado pela infecção⁹.

Quando animais são infectados pelo *T. gondii*, podem ser observadas alterações reprodutivas como abortos ou natimortos; alterações neuromusculares e oculares, até cegueira¹⁰. Contudo, no *Felis catus* a doença clínica é rara, pois o ciclo enteroepitelial habitualmente não leva a sinais clínicos¹¹. Mas, quando coinfectados com outros patógenos, como vírus imunossupressores, poderão desenvolver a toxoplasmose aguda¹.

Desta forma os gatos podem ir a óbito em decorrência da toxoplasmose, sendo que qualquer órgão pode ser acometido, destacando-se a pneumonia como a alteração clínica mais comum ¹. Entretanto, a transmissão congênita em felinos é rara, mas filhotes congenitamente infectados poderão eliminar oocistos¹².

2.1.3. Aspectos epidemiológicos

Por ser um agente causador de zoonose e por seus impactos à Saúde Pública, o *T. gondii* tem sido o mais estudado, dentre os coccídeos². Contudo, os papéis das várias fontes potenciais de infecção não são totalmente conhecidos e variam nas diferentes regiões¹³.

Anticorpos para o *T. gondii* são detectados em humanos por todo o mundo e estima-se que um terço, ou mais, da população mundial esteja cronicamente infectada, desenvolvendo títulos sorológicos detectáveis para o parasita⁹. Os índices de soropositividade são variados e dependentes de fatores climáticos, socioeconômicos, culturais¹¹, região geográfica e hábito alimentar².

Assim, a prevalência de anticorpos para o protozoário em humanos pode variar consideravelmente nas diferentes populações, sendo que em três décadas de estudo a variação foi de 0 até 100% em adultos². Diversos fatores podem estar envolvidos na infecção humana como: consumo de carnes cruas ou mal cozidas¹⁴; faixa etária, renda *per capita* e grau de escolaridade do paciente; presença de gatos peridomiciliados; hábito de ingerir verduras e legumes crus¹⁵; água potável não originária de abastecimento público; hábito de lidar com terra ou areia¹⁶.

Outro fator associado à infecção é a gravidez, pois esta aumenta a chance do desenvolvimento da infecção, como demonstrado por Avelino et al.¹⁷, os quais detectaram em seu estudo que as gestantes avaliadas apresentaram 2,2 vezes mais chances de desenvolver a toxoplasmose quando comparadas a não gestantes.

Além da infecção humana, o *T. gondii* está amplamente difundido nos animais em todo o mundo. Dubey et al.³ relataram que no Brasil a frequência desse protozoário em animais domésticos e silvestres pode chegar 90%.

Dentre os animais domésticos destacam-se os cães, pela proximidade com o homem. Tais animais podem ser soropositivos para o *T. gondii*, porém são raros os relatos da toxoplasmose clínica, por isso são considerados sentinelas desta infecção. No entanto, o cachorro pode carrear oocistos mecanicamente na pelagem¹.

Ressalta-se a importância dos animais de produção na epidemiologia da enfermidade, pois são importantes fontes de infecção para os seres humanos. Dentre as diversas espécies animais, os caprinos, ovinos e suínos são mais sensíveis à infecção pelo *T. gondii* quando comparados aos bovinos, equinos e aves, os quais raramente apresentam sintomatologia¹⁸.

a) Ocorrência em gatos domésticos (*Felis catus*)

Dentre os felídeos, o gato doméstico (*Felis catus*) apresenta elevada importância, pois é considerado animal de companhia, o que proporcionou o aumento de sua população nos domicílios brasileiros, chegando a 22,1 milhões, em 2013¹⁹. Contudo, o potencial zoonótico de tal espécie é desconhecido pela maioria das pessoas. Desta forma, vários proprietários permitem que seus animais circulem livremente pelas ruas, podendo ingerir presas contaminadas com o *T. gondii*, com consequente possibilidade de eliminação de oocistos no ambiente²⁰.

Tal condição poderá levar à contaminação dos alimentos, água, terra e outros animais, fazendo com que os oocistos esporulados sejam de grande importância na infecção para os hospedeiros intermediários¹. Por conseguinte, alguns autores associam o número de gatos infectados na região, à chance dos hospedeiros se contaminarem¹⁵.

O que faz com que o *Felis catus* seja considerado o principal responsável pela perpetuação da toxoplasmose nos grandes centros, pois é o representante doméstico dos hospedeiros definitivos²¹. Assim, a infecção pelo *T. gondii* em gatos apresenta grande importância na vigilância epidemiológica¹².

Por isso, diversos trabalhos têm buscado associar os resultados sorológicos nesses animais ao risco dos hospedeiros se contaminarem com os oocistos do protozoário. Em gatos domésticos, anticorpos contra *T. gondii* já foram detectados, sendo que a soroprevalência nestes animais é elevada, dependendo, entre outros fatores, o tipo de alimentação e acesso à rua².

No Brasil, diversos autores estudaram a soropositividade do *T. gondii* em *Felis catus*, sendo que diferentes testes foram utilizados e vários fatores associados à infecção por tal protozoário. Os resultados encontrados estão distribuídos no quadro 1, os quais variaram de 5,6% a 57,14%.

QUADRO 1 - Resultados sorológicos encontrados em *Felis catus* de diferentes cidades brasileiras e possíveis fatores associados à infecção pelo *Toxoplasma gondii* em cada população pesquisada.

Região	(%) Teste	Fatores associados à infecção
Porto Alegre - RS ²²	37% (HAI)	Idade
Niterói - RJ ²³	21,95%(HAI)	N/O
Curitiba - PR ²¹	17,2% (IFI)	Idade
Araçatuba - SP ²⁴	22,8%(HAI)	—
Eldorado - MS ²⁵	57,14%(MAT)	N/O
Porto Alegre - RS ²⁶	37,9%(IFI)	Acesso à rua e idade
Lages - SC ²⁷	14,33%(IFI)	Acesso à rua e idade
Curitiba - PR ²⁸	16, 3%(IFI)	N/O
Niterói - RJ ²⁹	10,3%(HAI)	Alimentação
São Luís - MA ³⁰	50,7%(IFI)	—
Vitória - ES ³¹	15,2%(ELISA)	Sexo
Rio de Janeiro ³²	5,6%(HAI)	N/O

N/O: não observou relação estatística com nenhum fator associado à infecção pelo *Toxoplasma gondii*.

As razões para essas variações são muitas, uma delas deve-se às populações de aves e roedores na área, os quais podem estar contaminados com o *T. gondii* e serem predados, porém quando ocorre o controle destes animais e o fornecimento de ração, o que diminui a chance de contaminação por bradizoítos e taquizoítos, a prevalência em gatos tende a ser reduzida¹.

Estudos relatam que gatos mais velhos apresentam maior chance de se apresentarem positivos para a toxoplasmose³³, entretanto, alguns autores não encontraram diferença significativa entre as faixas etárias dos gatos positivos^{23, 28}.

b) Importância epidemiológica dos oocistos

Em condições experimentais ideais gatos podem eliminar oocistos após a ingestão de poucos bradizoítos, por um período que varia de uma a três semanas, e acredita-se que a imunidade impossibilite a reeliminação de tal fase do protozoário³⁴. Contudo, estudos experimentais demonstraram que após imunossupressão com acetato de metilprednisolona³⁵; ou um período de seis anos da infecção primária³⁶; ainda posterior a

sucessivas infecções com diferentes cepas do *T. gondii*³⁷, tal fase de desenvolvimento do protozoário poderia ser lançada no ambiente novamente. Mas, a reelimação de oocistos na natureza ainda não foi comprovada.

Destaca-se que o período pré-patente da infecção depende da fase infecciosa do protozoário, pois caso cistos tissulares sejam ingeridos, o tempo até a eliminação de oocistos será de três a dez dias, 18 dias após a ingestão dos oocistos e 13 dias para taquizoítos⁵. Desta forma, os felídeos podem eliminar milhões de oocistos após a ingestão de qualquer uma das três fases do *T. gondii*¹. Entretanto, a detecção de oocistos nas fezes de gatos é relativamente rara, pois a frequência é de aproximadamente 1% dos animais estudados³⁶.

Todavia, menos de 50% dos gatos lançam oocistos no ambiente após a ingestão de taquizoítos ou oocistos, ao passo que quase todos os hospedeiros definitivos os eliminam após a ingestão de cistos presentes nos tecidos. Isto demonstra que tal protozoário está adaptado a ser transmitido pelo carnivorismo em gatos, sendo a transmissão pelos oocistos esporulados mais eficiente nos hospedeiros intermediários, tanto mamíferos como aves¹.

Destaca-se que a veiculação de oocistos esporulados pode ocorrer pela água, solo e por vegetais crus e frutas. A inalação de aerossóis com partículas de poeira contendo essa fase de desenvolvimento também tem sido considerada como meio de transmissão³⁸.

A infecção induzida por oocistos em humanos é clinicamente mais grave do que infecções por cistos presentes na carne crua³⁴. Por isso, seu impacto na epidemiologia da toxoplasmose deve ser melhor investigado, pois são suspeitos de estarem associados às altas soroprevalências em humanos³⁹, pois, pela ingestão de um único oocisto os hospedeiros intermediários podem se contaminar¹.

Ressalta-se que o oocisto esporulado pode ser destruído quando submetido à temperatura de 60°C por um a dois minutos, mas, resiste à degradação física, química e sobrevive em ambientes adversos, o que proporciona elevadas chances de perpetuação na natureza¹.

Desta forma, a detecção de oocistos é importante para a vigilância epidemiológica e consequentemente para a Saúde Pública. Contudo, resultados sorológicos de gatos não identificam a eliminação dos oocistos, pois estes depois de infectados terão títulos de anticorpos detectáveis somente 14 a 21 dias após a infecção, sendo este o período em que os oocistos estarão sendo eliminados. Ou seja, durante o lançamento de oocistos no ambiente os níveis de anticorpos são baixos⁴⁰.

Mesmo assim pesquisas epidemiológicas buscam fazer tal associação, entretanto os resultados sorológicos normalmente são superiores a detecção de oocistos, isso significa que a prevalência de excreção de oocistos nas fezes é muito menor do que a soroprevalência encontrada (quadro 2).

QUADRO 2 - Resultados sorológicos encontrados em *Felis catus* positivos para o *Toxoplasma gondii* e a frequência de oocistos deste protozoário em suas fezes.

Região	Sorologia (%)	Oocistos (%)
Brasil ⁴¹	MAT (35,4%)	Bioensaio (1,7%)
Brasil ²¹	IFI (17,2%)	Microscopia (0,00%)
Israel ⁴²	—	PCR (9%)
EUA ⁴³	—	Microscopia (0,9%)
Caribe ⁴⁴	MAT (73,9%)	Bioensaio (0,00%)
Suíça ⁴⁵	—	PCR (0,4%)
Canadá ⁴⁶	MAT (29,8%)	Microscopia (1,3%)
Brasil ²⁹	HAI (10,3%)	Microscopia (0,00%)
Peru ²⁹	HAI (11%)	Microscopia (0,00%)
Etiópia ⁴⁷	MAT (91,6%)	Bioensaio (19,4%)
EUA ⁴⁸	—	PCR (6%)
Brasil ³²	HAI (5,6%)	Microscopia (0,00%)
Portugal ⁴⁹	MAT (20,5%)	PCR (35,6%)

2.1.6. Diagnóstico

Por ser uma zoonose, o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose tem grande importância para vigilância epidemiológica e Saúde Pública. Para diagnosticá-la, inicialmente usa-se a sorologia, que busca demonstrar níveis de anticorpos específicos ao *T. gondii*, sendo que os títulos mantêm-se elevados durante meses a anos. O método sorológico é eficiente para indicar o contato com o protozoário e em qual fase da infecção este se encontra⁵⁰.

Contudo, em gatos, durante o período de liberação de oocistos os títulos de anticorpos são baixos¹², o que faz com que neste período a pesquisa sorológica tenha pouca validade, em felídeos, devendo-se então associar os exames sorológicos a métodos de detecção de oocisto nas fezes.

c) Diagnóstico sorológico

Após a infecção pelo *T. gondii* inicia-se a soroconversão, sendo as imunoglobulinas M (IgM) as primeiras a se elevar, mas logo diminuem, chegando a títulos não detectáveis, passando o animal a ter as imunoglobulinas G (IgG) como proteção²¹. Portanto, os estudos sorológicos devem detectar a IgM em gatos e associá-la ao período de eliminação de oocistos, pois estes estão relacionados à infecção recente, conhecida como aguda, enquanto a IgG é característica da fase crônica.

Assim, a pesquisa de diferentes classes de imunoglobulinas anti - *T. gondii* constitui o principal método laboratorial para o diagnóstico da doença em animais e humanos, pois permite a análise de perfis sorológicos, seja de infecção recente, em fase aguda, ou de infecção crônica⁹.

Diversas técnicas sorológicas têm sido empregadas para diagnosticar a toxoplasmose em felídeos, como a aglutinação modificada (MAT), hemaglutinação indireta (HAI), reação de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA). Porém, o IFI possui como desvantagens a necessidade de um microscópio de fluorescência e conjugados específicos por espécie. Já o ELISA requer leitor para quantificar a cor da reação¹.

O MAT é um teste de aglutinação direta e simples e é amplamente utilizado para o diagnóstico da toxoplasmose em animais, porém a mesma não faz diferenciação entre as imunoglobulinas de fase aguda ou crônica¹. Já o HAI, apresenta elevada sensibilidade, simplicidade de execução, baixo custo⁵¹ e é capaz de diferenciar IgG e IgM²⁹. Destaca-se que trabalho realizado por Silva⁵² demonstrou resultados iguais para detecção por HAI e MAT em felídeos silvestres.

d) Diagnóstico para a detecção de oocistos

Em gatos, durante o período de liberação de oocistos os títulos de anticorpos são baixos, podendo não ser detectados pelos testes sorológicos, o que faz com que neste período a pesquisa sorológica possua pouca validade¹².

Pode-se então realizar os exames coproparasitológico seguido de microscopia. Contudo, os oocistos detectados serão os não esporulados, de difícil diferenciação visual entre oocistos de outras espécies de protozoários, como *Besnoitia darlingi*, *B. wallacei*, *B. neotomofelis*, *B. oryctofelisi*⁵³, *Isospora felis*, *I. rivolta*, *Hammondia hammondi*, *Sarcocystis*

muris (figura 2), os quais podem estar presentes nas fezes do gato, mas não parasitam o homem¹.

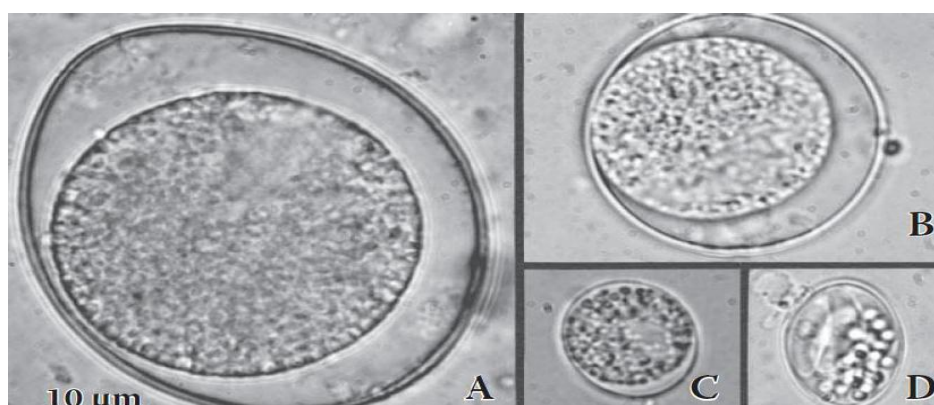


FIGURA 2 - Oocistos não esporulados de *Isospora felis* (A), *Isospora rivolta* (B) e *Toxoplasma gondii* (C), em comparação com esporocisto esporulado de *Sarcocystis muris* (D). Ampliação de 1600 x.

Fonte: Dubey¹.

Outra opção é a diferenciação dos oocistos após a esporulação¹, todavia nesta situação há risco de infecção aos hospedeiros intermediários, desta forma tal procedimento só deve ser realizado em laboratórios altamente tecnificados.

Pode-se então realizar o bioensaio em camundongos, que possui elevada sensibilidade e detecta até mesmo alguns oocistos viáveis de *T. gondii*^{41, 47}. No entanto, tal método representa risco biológico, é oneroso e pode demorar a apresentar resultados satisfatórios. Tais características tornam este método impróprio para ser utilizado em grande escala⁵⁴.

Em contrapartida, uma técnica desenvolvida por Salant et al.⁴² utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR), possibilitou maior segurança e correspondente sensibilidade quando comparado ao bioensaio em camundongos para a detecção de oocistos nas fezes de gatos⁵⁴.

A técnica baseia-se em flotação de material fecal em solução de *Sheather*, seguida de ruptura mecânica em nitrogênio líquido, posterior extração de DNA do extrato proveniente das fezes e por fim análise do material pela PCR convencional, o que proporciona a detecção de um a dois oocistos de *T. gondii* provenientes das fezes de gatos⁴².

2.1.7. Controle e prevenção da toxoplasmose felina

Buscando diminuir a contaminação dos gatos pelo *T. gondii* e consequente eliminação de oocistos no meio ambiente, mínimas ações podem resultar na prevenção da toxoplasmose, como por exemplo: os proprietários de gatos devem ser orientados a manterem seus animais dentro de casa, sem acesso à rua; devem ensinar o seu animal a utilizar a caixa de areia, fornecer ração e água fresca e recolher as fezes diariamente. Devem ser promovidas orientações para a guarda responsável, bem como campanhas de castração, com o objetivo de reduzir a superpopulação e o número de gatos livres, os quais representam risco à Saúde Pública. Além, da orientação quanto a higiene rigorosa das mãos, principalmente após a jardinagem ou contato com o solo²⁰.

2.2. Vírus da imunodeficiência felina

Sabe-se que a infecção simultânea do *T. gondii* em felinos com outros patógenos, por exemplo, o vírus da imunodeficiência felina (FIV), pode pré dispor o desenvolvimento agudo da toxoplasmose¹. O FIV é um lentivirus da família Retroviridae que pode estabelecer infecção persistente em felídeos silvestres como também em gatos domésticos (*Felis catus*)⁵⁵. Devido ao seu tropismo por células linfóides do sistema imune, tal agente infeccioso pode resultar em desregulação da imunidade celular, por isso está associado às síndromes de imunossupressão⁵⁶.

É reconhecido como modelo excelente modelo para estudos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da AIDS, resultante da infecção como o vírus da imunodeficiência humana do tipo HIV-1. Assim, sabe-se que aquele causa em gatos uma enfermidade bastante similar à observada em paciente com AIDS⁵⁵.

Como outros retrovírus, sua estrutura genômica é constituída, além de genes acessórios, por três genes principais: o *gag*, que codifica a proteína de capsídeo p-24; o *pol*, responsável por codificar proteases, integrases e proteínas de transcriptase reversa e o *env* que codifica a glicoproteína viral (gp120) e a proteína transmembranar (gp41)⁵⁶.

Estudos prévios baseados na diversidade genética do gene *env* demonstraram a ocorrência de cinco subtipos diferentes do vírus, designados de A, B, C, D e E, sendo que tais cepas estão presentes em felídeos por todo mundo⁵⁷. No Brasil, pouco se conhece sobre a diversidade genética do FIV, porém já foi isolado e identificado o subtipo B^{58, 59}, o qual apresenta baixa virulência⁵⁷.

2.2.1. Epidemiologia

A distribuição do FIV é cosmopolita, sendo considerado o patógeno mais comum entre as doenças infecciosas de gatos domésticos, pequenos felídeos e gatos silvestres. Está associado à alta densidade populacional, além de aumentar o risco a infecções oportunistas, por ser imunossupressor⁵⁶.

Altas taxas de infecção são encontradas em gatos adultos com livre acesso à rua, os quais frequentemente apresentam comportamento agressivo⁵⁵. Desta forma, o FIV está associado principalmente à vida livre e mordeduras decorrentes de lutas por território, por conseguinte, a transmissão é baixa em gatos socialmente bem adaptados⁵⁶.

Assim, o agente apresenta prevalência variada segundo as regiões geográficas e fatores associados à infecção como: gênero masculino, idade adulta, acesso ao exterior⁶⁰, comportamento agressivo e animais doentes⁵⁵, os quais são mais propensos a apresentarem-se positivos para tal enfermidade.

Portanto, diferentes prevalências são encontradas pelo mundo, variando em estudos de 1 a 44%⁵⁸, porém até o momento na América do Sul o maior resultado registrado foi de 34,6%, encontrado na Argentina⁶¹. No Brasil, poucos são os grupos científicos que estudam tal patógeno e que quando ocorre, a maioria não avalia os fatores associados à infecção pelo FIV, sendo que as pesquisas concentram-se na região sul e sudeste e somente um trabalho realizado no Distrito Federal foi encontrado na literatura consultada (quadro 3).

QUADRO 3 - Resultados encontrados em *Felis catus* de diferentes regiões do Brasil, com variados testes e fatores associados à infecção pelo vírus da imunodeficiência.

Estado	Resultado (%)	Fatores associados à infecção
Minas Gerais ⁵⁵	PCR (4,14%)	—
Minas Gerais ⁶²	PCR (9,4%)	—
Rio Grande do Sul ⁶³	PCR + ELISA (21,5%)	Acesso à rua
Minas Gerais ⁶⁴	PCR + ELISA (3,85%)	N/O
São Paulo ⁶⁵	ELISA (5,63%)	Idade e sexo
Paraná ⁶⁶	ELISA (3%)	—
Distrito Federal ⁶⁷	ELISA (2,77%)	—
Paraná ⁶⁸	ELISA (8,33%)	—
Rio Grande do Sul ⁵⁸	PCR (15,7%)	Idade
Rio de Janeiro ⁶⁹	PCR + ELISA (4,47%)	—

N/O: não observou relação estatística com nenhum fator associado à infecção pelo vírus da imunodeficiência felina.

2.2.2. Transmissão, patogenia e sinais clínicos

A forma primária de transmissão natural do FIV é por meio da saliva em mordidas infligidas por animais infectados. A transmissão intrauterina, perinatal, pelo colostro, leite, ou pelo sêmen de machos soropositivos também pode ocorrer⁷⁰. Desta forma, o FIV é transmitido principalmente pela mordedura, assim animais machos não castrados e que se envolvem em brigas possuem maiores chances de se contaminarem com o vírus⁵⁵.

Quando invade o organismo o vírus infecta principalmente linfócitos T CD4 e CD8, mas também pode se replicar em linfócitos B e macrófagos. Consequentemente, há a diminuição dos linfócitos T CD4, ao mesmo tempo, os linfócitos T CD8 aumentam gradativamente, resultando na inversão na taxa de linfócitos T CD4 / T CD8, comprometendo a resposta imune do animal⁷¹.

Desta forma, a infecção é caracterizada pelo declínio progressivo de células T CD4 circulantes, o que propicia a imunodeficiência, aumentando o risco de desenvolvimento de infecções oportunistas. Mas, o próprio vírus não causa sinais clínicos graves, e os gatos infectados podem viver por muitos anos⁶⁰.

Clinicamente, a síndrome da imunodeficiência adquirida dos felinos pode ser caracterizada por cinco estágios da doença: aguda, com doenças passageiras, apresentando neutropenia, linfadenopatia e febre; assintomática, podendo não ocorrer, sendo que a infecção pode permanecer inaparente por períodos prolongados; linfadenopatia persistente generalizada, caracterizada pelo aumento de nódulos linfáticos e vagos sinais clínicos, como febre recorrente, mas sem infecções graves⁵⁵.

A quarta fase é o complexo relacionado com AIDS (CRA), conjunto de sintomas e sinais inespecíficos de intensidade variável, além de processos oportunistas de menor gravidade. Pode durar meses a anos, com o animal apresentando linfadenopatia generalizada, febre recorrente, apatia, leucopenia, anemia, anorexia, perda de peso e estomatite crônica (figura 3). Desordens neurológicas, renais e neoplasias são menos frequentes. A maioria dos animais em CRA progride para a quinta fase, conhecida como AIDS felina, na qual ocorrem os sintomas da ARC mais infecções oportunistas, neoplasias e anormalidades neurológicas⁵⁵.



FIGURA 3 – Gengivite (seta pequena) e estomatite (setas grandes) em gato positivo para o vírus da imunodeficiência felina.
Fonte: Alves e Reis⁵⁶.

2.2.3. Diagnóstico

A imunodeficiência provocada pelo FIV não cursa com sintomas clínicos patognomônicos. Portanto, o diagnóstico definitivo deve ser realizado em conjunto com exames complementares como a detecção direta, com isolamento viral e testes moleculares como a PCR, e métodos de detecção indireta, testes imunológicos para detecção de anticorpos como o ensaio imunoenzimático (ELISA), imunocromatografia e o *Western blot*. Este último é considerado padrão-ouro para o diagnóstico sorológico do vírus, porém não é utilizado na rotina clínica⁵⁹.

Em contraste com a maioria das viroses, a simples demonstração de anticorpos anti- FIV no soro pode ser considerada adequada para o diagnóstico de uma infecção, já que ocorre a persistência da infecção viral, mesmo diante de resposta imunológica adequada do hospedeiro⁵⁹.

Desta forma, os testes utilizados na rotina clínica, como o ELISA e ou a imunocromatografia, se baseiam na detecção de anticorpos que reconhecem as proteínas estruturais do vírus (como a p-24 e p-15) e uma das glicoproteínas do envelope viral, gp-

41⁵⁹. No entanto, em um estudo realizado por Alves⁶⁴ padronizou o teste r-p24 ELISA, ou ELISA indireto, o qual se demonstrou sensível, específico e podendo assim ser aplicado para o diagnóstico de rotina e ou em pesquisa da infecção pelo vírus, pois apresenta baixo custo quando comparado aos testes comerciais.

Contudo, os resultados das diversas técnicas complementares para o diagnóstico do FIV devem ser interpretados cuidadosamente, pois podem ocorrer falsos-positivos, independentemente do método sorológico utilizado, pois geralmente os testes são altamente sensíveis. Assim, quando encontrado um resultado positivo em um animal com baixo risco de infecção, por exemplo, gato sem histórico de acesso a rua, o resultado deve ser confirmado por novos testes. Resultado positivo em um gato pertencente a um grupo de risco (gato macho, adulto, com acesso à rua) tem um valor preditivo positivo alto. Resultados falsos negativos podem ser encontrados na fase terminal da doença em animais com baixos títulos de anticorpos⁵⁹.

A presença de anticorpos maternos em filhotes nascidos de mães positivas ao FIV pode resultar em testes positivos, portanto, os exames devem ser realizados após 16 semanas de idade. A reação em cadeia da polimerase, PCR, neste caso constitui-se em uma excelente ferramenta, levando-se em consideração a necessidade de realizar o teste também na mãe para a identificação correta da cepa infectante envolvida⁵⁹.

2.2.4. Controle e prevenção

O FIV não sobrevive por muito tempo fora do hospedeiro e é facilmente inativado por desinfetantes, aquecimento e secagem, desta forma deve-se manter a adequada higiene do ambiente dos gatos infectados. No entanto, a identificação e a segregação de gatos contaminandos é a forma mais eficaz de prevenir novas infecções⁶⁰.

Assim, é importante isolar o animal diagnosticado com o FIV e mantê-lo em bom estado de saúde, com diagnóstico rápido e preciso de quaisquer doenças secundárias. Gatos positivos devem ser castrados para reduzir agressividade e o risco de contaminação durante a luta e cópula, pois no Brasil ainda não existem vacinas para tal vírus⁵⁶.

Ressalta-se que gatos positivos não devem ser sacrificados, pois estes podem ter uma longa vida. No entanto, devem ser levados regularmente ao veterinário para realização de *check up*. Mas, a eutanásia deve ser considerada quando problemas clínicos estão ligados à fase avançada da infecção⁵⁶.

2.3. Gatos coinfectados pelo *Toxoplasma gondii* e pelo vírus da imunodeficiência felina

A toxoplasmose em conjunto com a infecção pelo FIV, que é uma das mais importantes retrovirose dentro a clínica de felinos, pode apresentar manifestações clínicas graves⁷². Isso devido ao declínio progressivo de células T CD4 circulantes, o que propicia a imunodeficiência, aumentando o risco de desenvolvimento de infecções oportunistas, como a toxoplasmose aguda em gatos domésticos⁷³.

Em geral, a infecção pelo FIV pode favorecer a proliferação do *T. gondii* em felídeos. Todavia, estudo realizado por Lin et al.⁷⁴ demonstrou que o estabelecimento da toxoplasmose pode aumentar a imunodeficiência induzida pelo vírus e provocar uma progressão da doença mais rápida do que a infecção provocada somente pelo FIV.

Desta forma, um número significativo de gatos com suspeita clínica de toxoplasmose pode estar infectado concomitantemente pelo FIV. Contudo, não se sabe qual patógeno foi responsável pela infecção primária, pois, o *T. gondii* pode ser um oportunista infectando o animal após a contaminação com o FIV, ou o animal infectado de primeira com o protozoário, após infecção com o vírus pode desencadear a forma generalizada da toxoplasmose¹.

Ressalta-se que felinos duplamente infectados por tais patógenos apresentam soroprevalência mais elevada para toxoplasmose¹. Pelo fato da imunossupressão induzida levar a reeliminação de oocistos no ambiente³⁵, acredita-se que a coinfecção pelo FIV possa reativar o protozoário e consequentemente levar a um segundo período de derramamento daquela forma infectante no meio-ambiente⁷⁵, assim a interação desses agentes pode resultar na reativação da toxoplasmose nos felídeos⁷².

A infecção pelo FIV pode levar seus hospedeiros definitivos e soropositivos para o *T. gondii*, os quais não representavam mais risco a Saúde Pública em relação a toxoplasmose, a atuarem novamente como eventuais fontes de infecção. Entretanto, são poucos os trabalhos que buscam determinar a ocorrência simultânea destes dois agentes infecciosos, como pode ser observado no quadro 4, bem como a eliminação de oocistos do protozoário nas fezes dos animais coinfectados.

QUADRO 4 - Resultados encontrados para o *Toxoplasma gondii* e o vírus da imunodeficiência em *Felis catus* de diferentes regiões do mundo, com possível coinfeção entre os patógenos e a eliminação de oocistos nas fezes dos animais avaliados.

Região	<i>T. gondii</i> (%)	FIV (%)	<i>T. gondii</i> +FIV	Oocistos (%)
Bélgica ⁷⁶	MAT (70,2%)	ELISA (11,3%)	9,5%	—
Brasil ⁶²	IFI (50%)	PCR (9,4%)	2,2%	—
Caribe ⁷⁷	MAT (30,6%)	ELISA (15,9%)	—	—
Irã ⁷⁵	MAT (32,1%)	ELISA (19,2%)	25,71%	—
Canadá ⁴⁶	MAT (29,8%)	ELISA (5,2%)	—	Micro (1,3%)
Brasil ⁷⁸	IFI (20,32%)	ELISA (5,63%)	2,79%	—
Tailândia ⁷⁹	MAT (10,1%)	ELISA (20,1%)	3,2%	—
Etiópia ⁸⁰	MAT (85,4%)	N/P	—	—

Micro=microscopia.

N/P= Não encontrou gatos soropositivos para o vírus da imunodeficiência.

Somente um trabalho foi encontrado na literatura com o objetivo de demonstrar a ocorrência das duas infecções e a possível eliminação de oocistos no ambiente, porém o único animal deste estudo em que foi identificado a presença do oocisto nas fezes foi negativo para o FIV⁴⁶. Assim, destaca-se que a maioria das pesquisas encontradas não analisaram as amostras fecais dos gatos, o que impossibilitou obter informações sobre o efeito dessa coinfeção e o lançamento de oocistos no ambiente.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em gatos domésticos (*Felis catus*) de Goiânia-GO e a presença de oocistos de *T. gondii* nas fezes destes animais, bem como possíveis fatores associados à infecção.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a presença de anticorpos anti -*T. gondii* em gatos de Goiânia-GO.
- Determinar o perfil sorológico de gatos de Goiânia-Go frente ao *T. gondii*.
- Utilizar a PCR convencional para a detecção de DNA de *T. gondii* provenientes de possíveis oocistos encontrados nas amostras fecais dos gatos de Goiânia-GO.
- Comparar a especificidade e sensibilidade das técnicas de sorologia para toxoplasmose e PCR convencional para o *T. gondii*.
- Avaliar a presença de anticorpos anti-FIV em gatos de Goiânia-GO.
- Avaliar os possíveis fatores associados à infecção pelo *T. gondii* como: idade, gênero, estilo de vida e coinfeção com o FIV.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local e período de realização

A pesquisa foi realizada na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG), sendo parte no Laboratório de Retrovíruses, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (DMVP/EV/UFGM). O período de coletas e análises de amostras, bem como a avaliação estatística dos resultados foi de agosto de 2014 a junho de 2015.

4.2. Grupo de gatos utilizados no estudo

Para a realização da pesquisa foram obtidas amostras de sangue venoso de 102 gatos, dentre os quais foram coletadas e analisadas 98 amostras fecais. Os animais que fizeram parte da pesquisa foram divididos de acordo com o estilo de vida: os que eram de vida livre, ou que tinham acesso à rua, e os que não tinham vida livre, ou sem histórico de acesso à rua.

Para compor o número total de animais foram coletadas amostras de gatos de diferentes procedências, como: Campus Samambaia/UFG, bem como os animais presentes no Departamento de Vigilância e Controle de Zoonoses (DVCZ) de Goiânia-GO. Também fizeram parte do estudo gatos de proprietários que passavam por atendimento no Hospital Veterinário (HV) da EVZ/UFG e os mantidos por duas Organizações Não Governamentais (ONG's) de Goiânia-GO.

O grupo total de animais foi dividido também de acordo com a idade e o gênero. Para os animais de vida livre a definição da idade foi feita pela avaliação da dentição, conforme demonstrado na figura 4 e seguindo o apresentado por Gorrel⁸¹. Desta forma, os animais foram divididos em dois grupos: idade inferior a seis meses, com a perceptível troca dos dentes e ausência de dentes molares; e os com idade igual ou superior a seis meses, nos quais se notava a presença de dentes molares. Para os animais de proprietário e os que eram mantidos por ONG's, a idade foi definida de acordo com o informado pelos tutores.

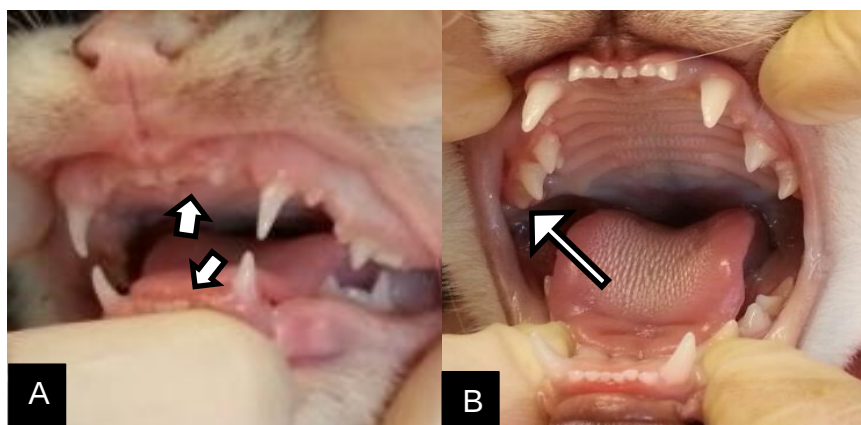


FIGURA 4 - Avaliação da dentição de gatos para a estimativa da idade. **A.** Destaque para a troca dos dentes incisivos (setas pequenas), demonstrava idade média de três meses. **B.** Presença de dentes molares (seta grande), animal classificado com idade igual ou superior a seis meses.

4.3. Coleta de material

Foram coletadas amostras sanguíneas e fecais, bem como dados referentes a idade, estilo de vida e gênero, possibilitando a realização de testes laboratoriais em 102 amostras de soro, bem como a PCR em 98 amostras fecais.

Para os animais do Campus Samambaia/UFG, a coleta de sangue e fezes foi realizada após a captura dos mesmos. Posteriormente, os gatos foram pesados, identificados e mantidos de um a dois dias em gaiolas com água, ração e caixa de areia, o que proporcionou a coleta de fezes com a respectiva identificação de cada animal (figura 5).

Para a manipulação, bem como para coleta de sangue e avaliação dentária, os animais foram sedados com cetamina (10mg/kg) e midazolam (0,2mg/kg) Após a coleta de material, o gato era vacinado com a antirrábica cedida pelo DVCZ e quando recuperado totalmente era solto no local da captura. Ressalta-se que alguns gatos foram castrados no HV/EVZ/UFG, sendo que os ferais foram soltos e os dóceis foram doados depois de realizada triagem.



FIGURA 5 - Captura e manutenção de gato oriundo do Campus Samambaia/UFG. **A.** Gato capturado com gatoeira. **B.** Gato mantido em gaiola com água, ração e caixa de areia, destaque para a identificação numérica, com data da captura e indicação do peso corporal, no canto inferior direito.

Os animais presentes no DVCZ foram mantidos em gaiolas separadas, o que proporcionou a identificação dos mesmos e a coleta de fezes. A avaliação da dentição e a coleta sanguínea ocorreram após a sedação com o protocolo utilizado no local. Já para os animais de ONG's e de proprietários a coleta de sangue foi realizada após a adequada contenção e o material fecal foi recolhido por cada tutor após a defecação espontânea.

Assim, de cada animal foram obtidos até 3mL de sangue, por meio da punção da veia femoral com o uso de escalpe 21G (Lamedide[®]) e seringa de 3mL (Descarpack[®]), outro acesso utilizado foi a veia jugular com agulhas 40x8 (BD[®]) e seringa de 3mL (Descarpack[®]). Após a coleta, o material foi identificado, mantido em tubo esterilizado sem EDTA (Labor Import[®]), acondicionado em caixas isotérmicas com gelo até o momento da separação do soro pela centrifugação a 1.000g por dez minutos. Posteriormente, o material foi separado em microtubos de 500μL e as amostras mantidas a -20°C até a realização dos exames.

As amostras fecais foram coletadas após a defecação espontânea, o material armazenado em frascos previamente identificados, acondicionados em caixas isotérmicas com gelo até a chegada ao Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária (DMV)/EVZ/UFG. Neste, os frascos eram mantidos em refrigerador com temperatura de 4 a 10°C, por no máximo dois dias. Após este período cada amostra de fezes passou pelo processo de lavagem, recuperação de oocistos e extração de DNA de acordo com

Salant et al.⁴² e o material obtido após este processo foi mantido a -20°C até a realização das PCR's.

4.4. Hemaglutinação indireta para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*

A análise sorológica para verificação da presença de anticorpos anti-*T. gondii* foi realizada em 102 amostras. Os testes foram feitos no Laboratório de Doenças Parasitárias do DMV/EVZ/UFG e foi utilizada a técnica de hemaglutinação indireta (HAI) por meio do kit Toxotest HAI do Laboratório Wiener Lab[®], o qual permite avaliações quantitativas e qualitativas.

O método foi realizado de acordo com as normas do fabricante, sendo consideradas como positivas as amostras que reagiram a partir da diluição de 1:16. Todas as amostras séricas foram tituladas até 1:64 e as positivas passaram por sucessivas titulações até apresentarem-se negativas.

Todas as amostras positivas na titulação de 1:16 passaram pela diluição com o 2-mercaptoetanol (2-ME), com o objetivo de diferenciação indireta da fase da doença, considerando a presença de anticorpos IgG como indicação de doença crônica e IgM para fase aguda da toxoplasmose.

4.5. ELISA indireto para o diagnóstico do vírus da imunodeficiência felina

A análise sorológica para verificação da coinfeção pelo FIV foi realizada em 100 amostras e o teste utilizado foi o ELISA indireto, com 90% de sensibilidade e 96,55% de especificidade. Tal técnica permite avaliações qualitativas por densidade óptica e foi padronizada⁶⁴ e realizada pelo Laboratório de Retrovírus do DMVP/EV/UFGM.

4.6. Preparação do material fecal e extração de DNA

Para a recuperação de possíveis oocistos do *T. gondii* presentes nas fezes dos gatos avaliados, foi utilizado o protocolo descrito por Salant et al.⁴², com a seguinte modificação: uso do kit PureLink[™] Genominc DNA Mini Kit – 50 preps (Invitrogen[®]) para extração de DNA em vez do QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen[®]). O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias DMV/EVZ/UFG, no Departamento de Reprodução Animal/EVZ/UFG, sendo a extração de DNA no Laboratório de Diagnóstico Molecular do DMV/EVZ/UFG.

Assim, de cada amostra fecal foi retirado 1g de fezes que foi misturado a 10mL de água bidestilada. O conteúdo foi centrifugado a 2.000g por 10min, o sobrenadante descartado e o volume foi preenchido até completar 10mL, e realizada uma nova centrifugação, com a repetição do processo por mais duas vezes.

Após a terceira lavagem, o sobrenadante era descartado, até restar cerca de 1mL de material fecal, e ao resíduo era acrescentado 1mL de solução de *Sheather* (106 g de açúcar, 100mL de água bidestilada, 0.8 mL fenol, GE=1,26) e a mistura era centrifugada a 1.000g por 10min. Depois da centrifugação 1mL do sobrenadante era transferido para tubos de ensaio, era adicionado 9mL de água bidestilada, e a mistura centrifugada a 2.500g por 10 min.

Com o processo descrito, o material filtrado era concentrado no fundo do tubo de ensaio, e após retirado o volume total de água bidestilada, era misturado ao concentrado: 200μL do tampão ASL (*Buffer ASL for Stool Lysis Buffer*, Qiagen®) mais pérolas de vidro totalizando o volume de 400μL. Esta mistura passava por agitação, com intermitentes congelar em nitrogênio líquido e descongelar em banho-maria, a 60°C, por cerca de 1 min, com intervalos de 10 min, com três repetições.

Depois do processo de ruptura, o material era centrifugado a 1.000g por 10min e eram retirados 200μL do sobrenadante da mistura (figura 6), esta quantidade passava pela extração de DNA, com a modificação de que a incubação com proteinase K a 60°C era realizada por uma hora e não por 10 minutos, como proposto por Salant et al.⁴². O eluato combinado obtido, 100μL por amostra, era dividido em três alíquotas e armazenado a -20°C até ser examinada pela PCR.



FIGURA 6 - Extratos fecais de diferentes amostras, após os processos de lavagem, flutuação e rompimento em nitrogênio líquido, os quais foram submetidos à extração de DNA.

Após o processo descrito, foi realizada a quantificação de DNA do material que passou pela extração. Por ser um teste que envolve reagentes de elevado custo foram selecionadas, por amostragem, somente quatro amostras dentre as 98. Para este processo foi utilizado o aparelho de quantificação de DNA Qubit[®] 2.0 Fluorometer e o protocolo utilizado foi o recomendado pelo fabricante.

4.7. Ensaios da reação em cadeia da polimerase

Os ensaios da reação em cadeia da polimerases foram realizados no Laboratório de Diagnóstico Molecular do DMV/EVZ/UFG. A preparação do *mix* de reação de PCR foi estabelecida a partir do protocolo descrito em Silveira Neto⁸². Dessa forma foi estabelecido o volume de 50 µL para o *mix* de reação, composto por 35,75 µL de água ultra-pura (Invitrogen[®]), 5 µL de Tampão para PCR 10X (Invitrogen[®]), 2,0 µL de Cloreto de Magnésio (MgCl₂) 50nM (Invitrogen[®]); 1 µL de dNTP Mix 10 mM (Invitrogen[®]); 0,5 µL (10pM) do iniciador forward, 0,5 µL (10 pM) do iniciador reverse; 0,25 µL de Taq 5 U/µL (Invitrogen[®]) e 5 µL do DNA genômico da amostra.

Para a detecção do DNA de *T. gondii* foi usado um par de *primers* correspondente ao fragmento de 193 pares de bases (bp) do gene B1: 5'-GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG - 3' e 5'-TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC - 3'. A mistura para a reação de PCR foi submetida ao processo de amplificação, em termociclador (Mastercycler Personal, Eppendorf[®]), previamente programado a um número de ciclos e temperaturas: um ciclo inicial de desnaturação de 94 °C por trinta segundos, seguido de 40 ciclos repetidos com as temperaturas de 94 °C por 20 segundos, 60 °C por 25 segundos e 72 °C por 25 segundos, finalizando a reação com uma fase de extensão adicional a 72 °C por cinco minutos.

Em todas as reações realizadas foram incluídos controles positivo e negativo. Como controle positivo nas reações foi utilizado DNA genômico de *T. gondii* (cepa RH) proveniente do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG. Como controle negativo foi utilizada água ultra pura esterilizada (Invitrogen[®]).

4.8. Leitura e documentação das reações em cadeia da polimerase

Os produtos de DNA amplificado foram posteriormente aplicados em gel de agarose a 2% (UltraPure[™] Agarose - Invitrogen[®]) em tampão TBE1X. O volume de 10µL dos produtos de PCR, homogeneizados em 2µL de corante de corrida (DNA Gel Loading Dye

(6X) - Invitrogen[®] – azul de bromofenol 0,125%, xileno cianol FF 0,125%, glicerol 30% em água ultra pura) foi aplicado em cada poço do gel.

Como marcador de massa molecular foi empregado o marcador de peso molecular DNA *Ladder* 100pb (Invitrogen[®]). As eletroforeses foram conduzidas em cuba (Horizon 11.14, Life Technologies[®]), a 90 V, durante 60 minutos. Após as corridas os géis foram corados por imersão em solução de brometo de etídio (0,6 mg/mL). A visualização foi feita no aparelho transiluminador de UV (Electronic UV Transilluminator, Ultra-Lum[®]), em ambiente escuro.

4.9. Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada empregando os teste de qui-quadrado (X^2), *odds Ratio* (OR) e a regressão logística multivariada, os quais foram obtidos por meio do Software R Core Team (2015)⁸³.

5. RESULTADOS

Dos 102 animais avaliados, 52 (50,98%) apresentavam idade inferior a seis meses e 50 (49,02%) idade igual ou superior a seis meses no momento da coleta de material. De acordo com o gênero, o número e a frequência entre machos e fêmeas foram de 49 (48,09%) e 53 (51,96%), respectivamente, e entre o total de animais avaliados 48 (47,06%) eram de vida livre e 54 (52,94%) não.

Para a determinação da frequência de anticorpos anti-*T. gondii* foi feita a avaliação sorológica qualitativa e quantitativa das 102 amostras, utilizando o método HAI (tabela 1). Foi verificado que o número total dos positivos foi de 19 (18,63%) animais, porém, todos foram negativos para o anticorpo IgM.

TABELA 1 - Frequência encontrada pelo método de hemaglutinação indireta para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em gatos da microrregião de Goiânia-Goiás e sua distribuição de acordo com a idade, gênero e estilo de vida dos animais.

Variável	Categoria	Positivos	Valor de p	OR (IC 95%)	Total de positivos
Idade	< 6 meses	2/102 (3,70%)	0,0001 ^a	—	19/102 (18,63%)
	≥ 6 meses	17/102 (16,67%)		12 (3-85)	
Gênero	Fêmea	8/102 (7,84%)	0,5899 ^b	—	
	Macho	11/102 (10,78%)		2 (0,6-5)	
Estilo de vida	Não livre	3/102 (2,94%)	0,0008 ^c	—	
	Vida livre	16/102 (15,69%)		8 (2-38)	

$$X^{2a}=14,8335$$

$$X^{2b}=0,2905$$

$$X^{2c}= 11,1682$$

Como registrado na tabela 1 entre os gatos com idade inferior a seis meses somente dois foram positivos, o que representou 3,70% do total de gatos. Já entre os com idade igual ou superior, 16,67% foram positivos. Tal diferença foi estatisticamente significativa neste estudo, assim a idade igual ou superior a seis meses foi considerada um fator associado à infecção pelo *T. gondii* em gatos, a qual aumentou em 12 [OR (3-85)] vezes a chance de o animal apresentar anticorpos para tal protozoário.

Dos 102 animais avaliados 10,78% dos machos foram positivos, já a frequência de fêmeas positivas foi de 7,84%, como demonstrado na tabela 1. Não se constatou significância estatística para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em relação a gênero.

Dentre os animais positivos, os de vida livre apresentaram a frequência de 15,69%, já os gatos que não tinham acesso à rua representaram 2,94% dos positivos. Tal distribuição foi estaticamente significativa neste estudo, o que demonstra que animais que vivem soltos estão mais propensos a ter contato com o protozoário e consequentemente apresentar anticorpos para o mesmo. De acordo com a *odds ratio* calculada o estilo de vida livre aumentou em oito [OR (2-38)] vezes a chance de o gato ser positivo para tal protozoário.

O perfil sorológico dos positivos, obtido pela titulação na HAI, está apresentado na figura 7, sendo que a menor titulação foi de 1:32 e a maior foi de 1:8.192. As titulações de 1:128, 1:256: e 1:512 foram as mais detectadas, sendo que cada uma apresentou quatro animais positivos.

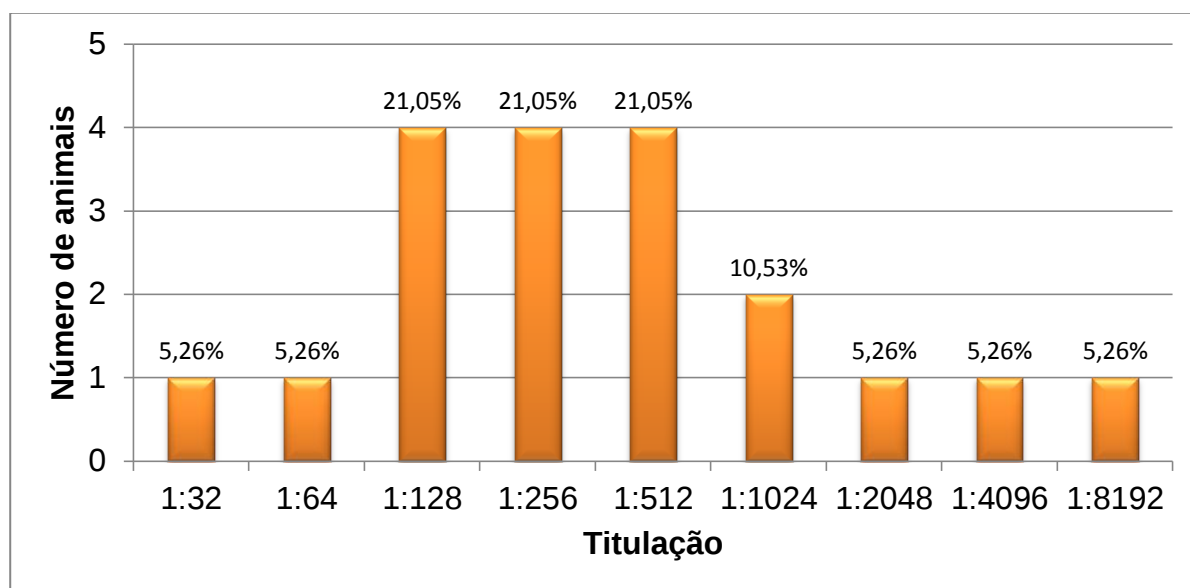


FIGURA 7 - Distribuição dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em *Felis catus* de Goiânia-Goiás frente a hemaglutinação indireta, 2015.

De acordo com o gênero e a idade a distribuição da titulação apresentou-se como demonstrado na figura 8, tendo sido constatado que os filhotes correspondem aos animais com idade inferior a seis meses e os adultos aos com idade igual ou superior a seis meses.

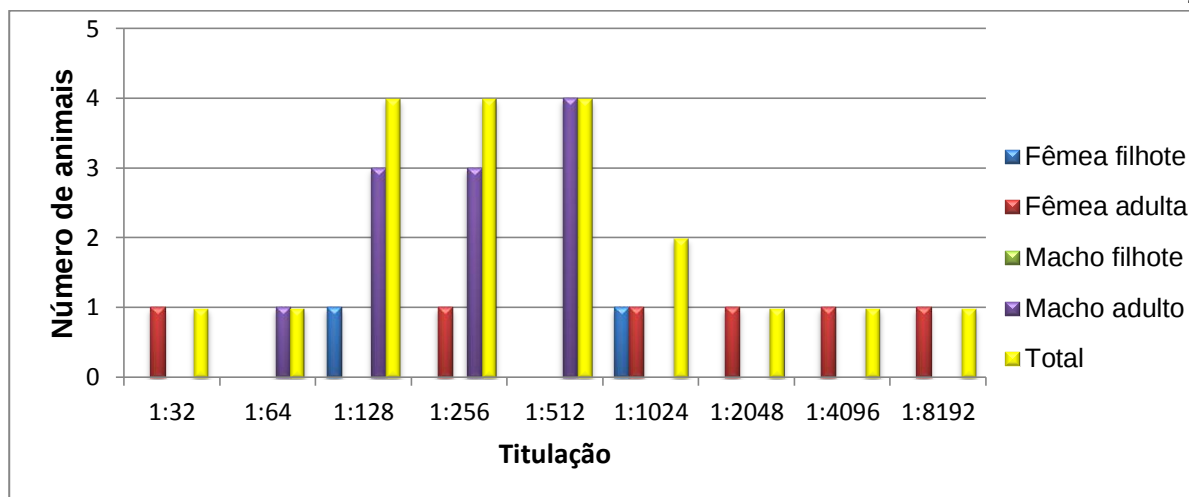


FIGURA 8 - Distribuição dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em *Felis catus* de Goiânia-Goiás, obtidos com o teste de hemaglutinação indireta, de acordo com o gênero e a idade, 2015.

O grupo de machos adultos apresentou o maior número de animais positivos, com títulos de 1:128, 1:256 e 1:512, detectando-se que nenhum macho filhote foi positivo. Já as fêmeas adultas apresentaram títulos de 1:32 a 1:8.192, sendo que as fêmeas filhotes apresentaram títulos de 1:128 e 1:1.024.

De acordo com o estilo de vida, a distribuição dos títulos variou de 1:32 a 1:4.096 entre os animais que viviam livres. Já para os gatos que não tinham acesso os títulos foram de 1:128 e 1:8.192 (figura 9).

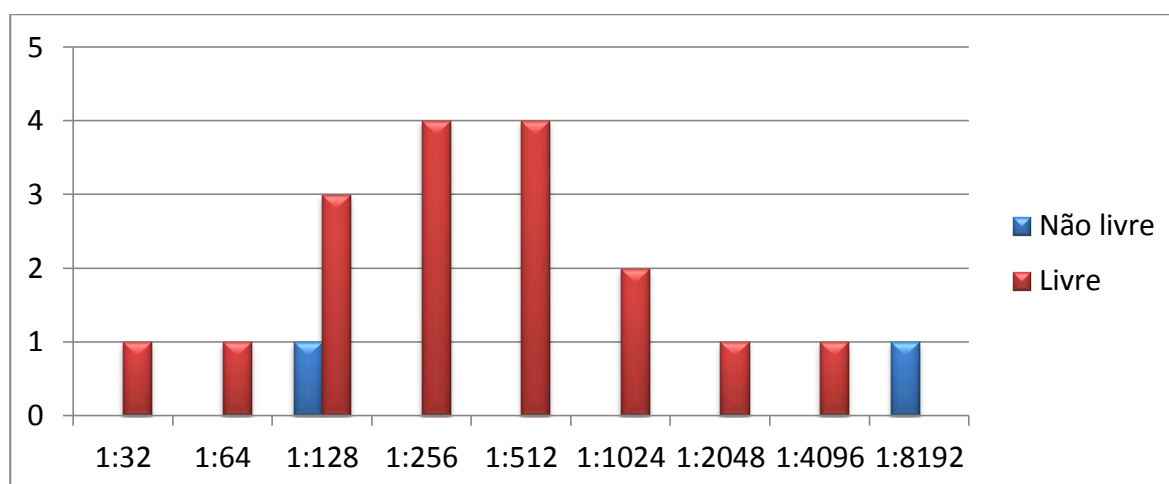


FIGURA 9 - Distribuição dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em *Felis catus* de Goiânia-Goiás, obtidos com o teste de hemaglutinação indireta, de acordo com o estilo de vida livre e o não livre, 2015.

Das 100 amostras avaliadas pelo ELISA indireto para detecção do FIV, sete apresentaram resultado como indeterminado, assim somente 93 possibilitaram avaliações fidedignas, das quais 52 (55,91%) foram positivas (tabela 2).

TABELA 2 - Frequência de gatos de Goiânia-Goiás positivos frente ao ELISA indireto para o vírus da imunodeficiência felina, e sua distribuição de acordo com a idade, gênero e estilo de vida dos animais.

Variável	Categoria	Positivos	Valor de p	OR (IC 95%)	Total de positivos
Idade	< 6 meses	13/93 (13,98%)	0,0001 ^a	—	
	≥ 6 meses	39/93 (41,94%)		16 (6-53)	
Gênero	Fêmea	28/93 (30,11%)	0,9999 ^b	—	52/93 (55,91%)
	Macho	24/93 (25,81%)		1 (0,43-2)	
Estilo de vida	Não livre	19/93 (20,43%)	0,0001 ^c	—	
	Vida livre	33/93 (35,48%)		6 (2-16)	

$$X^{2a} = 31,0767$$

$$X^{2b} = 0,0001$$

$$X^{2c} = 14,3180$$

Entre os 93 gatos, 13 (13,98%) com idade inferior a seis meses foram positivos, enquanto 39 (41,94%) dos que apresentavam idade igual ou superior a seis meses foram positivos. De acordo com a *odds ratio* calculada, este fator aumentou em 16 [OR (6-53)] vezes a chance de os gatos se apresentarem positivos frente ao ELISA indireto.

Entre machos e fêmeas a distribuição entre os positivos foi 24 (25,81%) e 28 (41,94%), respectivamente, o que não apresentou diferença estatística. Assim, neste estudo os machos não foram mais propensos a apresentarem-se positivos para o vírus.

Porém, o estilo de vida livre foi estatisticamente significativo para que os animais apresentassem-se positivos, pois 35,48% dos gatos positivos tinham acesso à rua ou eram de vida livre, o que aumentou em seis [OR (2-16)] vezes a chance de os gatos serem positivos frente ao ELISA.

Dos 52 animais positivos frente ao ELISA indireto, 17 também foram positivos no HAI, o que representa 18,28% do total de positivos para o FIV. Somente dois animais, um de dois meses de idade e titulação de 1:128, outro de seis meses com 1:512, foram positivos na sorologia para o *T. gondii* e não apresentaram anticorpos para FIV. Todos os outros positivos para os dois testes apresentavam títulos de 1:32 a 1:8.192.

De acordo com o apresentado na tabela 3, os resultados dos dois testes utilizados nesta pesquisa foram estatisticamente significativos, quando avaliados pelo qui-quadrado, sendo que a *odds ratio* calculada foi de 16 [OR (3-419)].

TABELA 3 - Número de gatos de Goiânia-Goiás positivos e negativos para os testes de hemaglutinação indireta para o *Toxoplasma gondii* e ELISA indireto para o vírus da imunodeficiência felina e a avaliação estatística pelo qui-quadrado e a *odds ratio*.

	FIV			P-valor	OR (IC 95%)
<i>T. gondii</i>	+	-	TOTAL		
-	35	40	75	0,0006	—
+	17	1	18		
TOTAL	52	41	93		16 (3-419)

$X^2 = 11,5741$.

Com os resultados obtidos foi realizada a regressão logística, a qual busca avaliar quanto e quais variáveis interferem na infecção e se as duas doenças realmente têm interferência entre si (tabela 4).

Tais fatores associados à infecção aumentaram as chances da detecção de anticorpos para os dois agentes, sendo que para o *T. gondii* a vida livre aumentou em 11 [OR (3- 73)] e a idade igual ou superior a seis meses em oito [OR (2-58)] vezes a chance de soropositividade. Já para o FIV o estilo de vida livre aumentou em quatro [OR (1-12)] vezes e a idade igual ou maior a seis meses em 13 [OR (5- 43)] vezes a chance do animal ser positivo frente ao ELISA indireto.

TABELA 4 – Avaliação estatística, pela regressão logística multivariada, entre os resultados da hemaglutinação indireta para o *Toxoplasma gondii* e do ELISA indireto para o vírus da imunodeficiência felina, com resultados apresentados pela *odds ratio* para as variáveis: vida livre e idade igual ou superior a seis meses.

Teste utilizado	Variáveis	OR (IC 95%)
<i>T. gondii</i>	Vida livre	11 (3- 73)
	Idade $\geq$ 6 meses	8 (2-58)
FIV	Vida livre	4 (1-12)
	Idade $\geq$ 6 meses	13 (5- 43)

Todas as amostras fecais que passaram pela técnica de PCR foram negativas, assim 100% dos gatos avaliados não estavam eliminando oocistos de *T. gondii* no momento da coleta de fezes. Ressalta-se que as amostras avaliadas pelo DNA Qubit[®] 2.0 Fluorometer apresentaram quantidade significativa de material genético: 1,17ng/μL, 1,44ng/μL, 7,25ng/μL, 7,79ng/μL.

6. DISCUSSÃO

A inclusão de animais de diversas localidades do município de Goiânia-GO, bem como gêneros, idades e formas de vida diferentes, permitiu a avaliar de maneira relevante a atual situação da infecção por *T. gondii* e por FIV em gatos desta região.

O estudo revelou que a frequência determinada pela HAI para o *T. gondii* foi de 18,63% (19/102), sendo todos soronegativos para IgM, o que pode ser indicativo de infecção antiga, uma vez que após a primo-infecção há soroconversão desta imunoglobulina, que se mantém elevada durante o período de eliminação de oocistos, que dura até 21 dias. Após este período, na maioria dos casos, ocorre a diminuição dos títulos sorológicos de tal anticorpo e elevação de IgG²¹.

No Brasil, utilizando o mesmo teste sorológico, Araújo et al.²² avaliaram pacientes do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul de Porto Alegre-RS e encontraram frequência de 37% superior a do presente estudo, e Bastos et al.³² por meio de amostras sanguíneas obtidas de gatos de programa de castração gratuito no Rio de Janeiro encontraram frequência inferior, de 5,6%. Tais resultados demonstraram que mesmo utilizando-se as mesmas técnicas, resultados variados são detectados em gatos do país, indicando diferentes aspectos epidemiológicos nas populações felinas e regiões.

A não positividade para IgM e a detecção de soropositivos somente para IgG apresenta correspondência com a não detecção de DNA do parasita nas fezes dos felinos avaliados, pois 100% das amostras foram negativas ao PCR.

Essa não detecção de *T. gondii* nas amostras fecais sinalizou para duas situações distintas. A primeira seria a possibilidade de já ter sido finalizado o período de eliminação de oocistos, que pode se estender por no máximo três semanas após a primo-infecção¹, tempo suficiente para que a IgM diminua a títulos não detectáveis²¹.

A segunda pode ser atribuída à condição de que após a primo-infecção menos de 50% dos gatos que se alimentaram com oocistos ou taquizoítos de *T. gondii* terão o desenvolvimento da fase sexuada do ciclo de vida em seu intestino, o que faz com que o gato desenvolva imunidade contra o protozoário, mas não elimine oocistos nas fezes¹.

Por outro lado a quase totalidade dos animais que se alimentam com bradizoítos apresentará eliminação de oocistos¹. Portanto, há possibilidade dos animais desta pesquisa não terem se infectado com cistos tissulares, apesar de terem sido avaliados animais de vida livre que, provavelmente, devem fazer predação. Considerando qualquer uma das hipóteses,

registra-se que nenhum animal da pesquisa representava risco para a Saúde Pública, frente a toxoplasmose, no momento da coleta de fezes.

Os resultados obtidos estão de acordo com o descrito por Temoche²⁹, que pelo HAI determinou que 10,3% dos gatos do Rio de Janeiro-RJ eram sorologicamente positivos para o *T. gondii*, no entanto 12% destes apresentaram IgM. E como neste estudo, nas amostras fecais desses gatos não foram detectados oocistos por métodos parasitológicos. Tal resultado, embora utilizando outro método e trabalhado com animais em outra fase da infecção, foi semelhante ao encontrado nesta pesquisa, demonstrando que gatos podem ser soropositivos e não apresentarem oocistos do protozoário em suas fezes¹.

Os resultados da presente pesquisa foram diferentes dos mencionados por Rezende⁸⁴, que determinou positividade de 64% dos animais provenientes do DVCZ de Goiânia-GO, avaliados pelo MAT para o *T. gondii*. Neste mesmo estudo 18,27% das amostras fecais avaliadas, pelos métodos parasitológicos, continham oocistos daquele protozoário, resultado este que pode ter sido superestimado, uma vez que o método parasitológico não permite a diferenciação visual de oocistos não esporulados de *T. gondii* dos de outros protozoários que também podem parasitar o gato doméstico⁵⁴.

Assim, para aumentar a fidedignidade dos resultados faz-se necessário o uso de técnicas de diagnóstico com maior limiar de sensibilidade analítica e especificidade à detecção dos oocistos do protozoário pesquisado, como o diagnóstico molecular empregado no presente estudo. Desta forma, diversos trabalhos têm buscado detectar oocistos provenientes de fezes por meio das diferentes técnicas de PCR, as quais fazem uso de marcadores moleculares específicos, como o gene B1^{45, 49}, aqui utilizado.

Todavia, ao avaliarem amostras fecais, Lilly e Wortham⁴⁸, descreveram que ainda que fazendo uso de diagnóstico molecular, ocorreram falsos positivos, que segundo os autores, seriam decorrentes da grande quantidade de DNA de bactérias presentes nas amostras. Desta forma, para evitar tal condição, é aconselhável o uso da técnica utilizada nesta pesquisa, que foi desenvolvida por Salant et al.⁴² e que busca purificar a amostra, selecionar e romper a parede dos oocistos de *T. gondii*.

Estudos que buscam detectar oocistos desse protozoário são importantes na Saúde Pública, pois esta fase de desenvolvimento é fundamental na epidemiologia da toxoplasmose, pois quando esporulados, se ingeridos, podem contaminar os hospedeiros intermediários e definitivos. Assim, os felídeos são os responsáveis por tal forma de infecção, pois são os únicos capazes de liberarem-na e dar continuidade ao ciclo do *T. gondii*⁸⁵.

Os oocistos são liberados pelos gatos após a ingestão de qualquer uma das três fases de vida¹, ressaltando-se que reduzido número de bradizoítos ou cistos tissulares é capaz de levar à elevada soroconversão em *Felis catus*⁴⁰. Como já citado, apesar de ser uma importante condição relatada na literatura, a maioria dos positivos detectados apresentava vida livre, o que favoreceria a ingestão de cistos ou bradizoítos presentes em presas, como aves ou roedores. Isso pode explicar os elevados títulos detectados neste estudo, chegando a 1:8.192, superior aos títulos já citados em outros estudos avaliados que utilizaram a HAI em soro de gato²⁴. Outro fato que pode proporcionar títulos elevados foi a idade dos animais, já que a maioria era jovem, com idade média de 12 meses, o que determina um período curto entre a contaminação e a avaliação sorológica. No entanto, era de se esperar, como já registrado, eliminação de oocistos por estes animais, o que não ocorreu.

Como mencionado na literatura, para prevenir a contaminação dos gatos, e assim, reduzir a eliminação de oocistos, devem-se conhecer os fatores associados a infecção pelo *T. gondii*⁸⁵. Nesta pesquisa, os fatores que favoreceram a positividade para o *T. gondii* foram idade e estilo de vida livre, sendo que a primeira chegou a aumentar em 12 [OR (2-85)] vezes a chance do animal se infectar com o protozoário, e enquanto a vida livre aumentou em 8 [OR (2-58)] vezes, não tendo sido verificadas diferenças estatísticas entre os grupos macho e fêmea.

Tais resultados estão de acordo com o encontrado por Opsteegh et al.⁸⁵, na Holanda, que por meio do ELISA indireto, verificaram 18,6%, de positivos e determinaram que a idade e o acesso a rua foram importantes fatores associados a infecção de gatos pelo *T. gondii*, porém não constataram relação entre o gênero e a infecção. Já Akhtardanesh et al.⁷⁵ verificaram no Irã, por meio do MAT, frequência de 32,1% para o *T. gondii* em gatos errantes e determinaram que animais mais velhos apresentavam 2,57 vezes mais chances de positividade. Estudo realizado por Moura et al.⁸⁶ em Lages-SC demonstrou que 35,5% dos gatos testados pelo IFI eram positivos, resultado que apresentou correlação significativa com a idade igual ou maior a 13 meses.

Desta forma, diferentes prevalências, atingindo até 95,5% têm sido relatadas para toxoplasmose felina pelo método MAT⁸⁷. Deve ser observado, que além da diferença nos testes utilizados, o fator idade também tem grande influência na variação da frequência na mesma região, como demonstrado por Opsteegh et al.⁸⁵, na Alemanha, que encontraram frequência de 18,6%, o que diferiu de 49%, detectada 17 anos antes na mesma região, os autores associaram essas diferenças ao número de animais amostrados e à diferença de idade

dos animais das duas pesquisas, bem como as características específicas das populações ao longo do tempo.

Esses resultados podem explicar as diferenças entre as frequências da infecção encontrada em gatos do DVCZ do município de Goiânia, por Rezende⁸⁴, de 64%, e a 18,63%, deste estudo. Como já abordado, a frequência encontrada no presente estudo foi relativamente baixa quando comparada ao primeiro, o que pode ser explicado pelo número de gatos com idade inferior a seis meses deste, os quais representaram 50,98% da população estudada, e pode ter levado a uma sub-representação da real situação da população frente ao *T. gondii*.

A positividade para o FIV foi avaliada quanto à resposta sorológica simultânea para o *T. gondii*. Assim, foi verificado que a infecção por este vírus está amplamente distribuída nos gatos amostrados na pesquisa, com frequência de 55,91% (52/93) de positivos sendo elevada quando comparada com o detectado por Montaña⁸⁸ de 5,6% e o por Silva⁶³, que encontrou 21,5% de positivos. A frequência de coinfectados encontrada neste trabalho foi de 18,28% (17/93), que também é elevada quando comparada aos resultados de Rivetti Jr⁶², de 2,2%, e de Dorny et al.⁷⁶, 9,5%.

A elevada frequência encontrada para o FIV nesta pesquisa pode ser explicada pela presença de animais de vida livre, como foi observado por Al-Kappany et al.⁸⁷ que registraram 33,9% dos gatos de vida livre soropositivos no ELISA. Destaca-se também que a alta sensibilidade do teste ELISA indireto possa ter influenciado, apresentando falsos positivos. Outra hipótese é de que a infecção esteja se difundindo pelo Brasil ao longo do tempo, devido à falta de vacina para FIV no Brasil ou a eventual transmissão por alguma variante do vírus ainda não descrita e não detectável nos testes de diagnóstico comercialmente utilizados, ressaltando-se que são escassas as informações sobre as cepas presentes do vírus no país^{57, 59}.

Além da elevada sensibilidade do teste, também podem ter sido detectados anticorpos maternos nos filhotes que apresentavam idade inferior a quatro meses no momento da coleta de amostras, tanto para o FIV⁵⁹ como para o *T. gondii*¹. Para o único filhote de proprietário que se encontrou nesta situação, para o protozoário em questão, foi solicitada uma posterior avaliação sorológica. Entretanto, para todos os positivos para o FIV e os quais poderiam passar por uma nova coleta de material, foi solicitado um novo exame para confirmação do diagnóstico.

Porém, como não foram encontrados dados de pesquisas anteriores realizadas no estado de Goiás para tal retrovírus, a frequência de 55,91% pode ser representativa. Por outro

lado, deve-se ressaltar que os animais não foram avaliados clinicamente, mesmo que alguns sintomas como diarreia e caquexia tenham sido observados, não se podendo afirmar que a doença clínica relacionada ao FIV ou ao *T. gondii* estivesse presente na população estudada.

Destaca-se que a frequência de 37,6% de soronegativos para o *T. gondii*, mas positivos para o FIV, indicou que o grupo de risco entre os animais da pesquisa pode ser expressivo, pois, tais animais podem vir a desenvolver a toxoplasmose clínica, caso venham se contaminar com o protozoário. Esta condição já foi demonstrada em alguns trabalhos, que destacaram que em gatos coinfetados, os sinais clínicos da toxoplasmose são acentuados^{73, 89}. Porém, poucos são os relatos da toxoplasmose clínica em animais infectados por aquele retrovírus¹. Desta forma em caso de animal que seja soropositivo para o *T. gondii* e que apresente sinais clínicos desta infecção, deve-se pesquisar o FIV.

Deve-se então conhecer os fatores associados à infecção para esse retrovírus, que pode levar à imunossupressão e ao desenvolvimento da toxoplasmose clínica nos felinos. Para os animais desta pesquisa o estilo de vida livre chegou a aumentar em seis [OR (2-16)] vezes a chance de o animal ser positivo para o FIV. Ressalta-se que a idade igual ou superior a seis meses apresentou maior relação, aumentando em 16 [OR (6- 53)] vezes a chance de soropositivo no ELISA indireto.

Talvez em função do número de animais amostrados e de particularidades da população amostrada também, em relação à infecção pelo FIV, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos macho e fêmea avaliados. Estes resultados diferiram dos de Montañó et al.⁸⁸, os quais apontaram que gatos machos, na faixa etária entre um e oito anos, e com acesso à rua, apresentaram maior infecção pelo retrovírus. Já Sobrinho et al.⁶⁵, verificaram predomínio da imunodeficiência em gatos machos e com idade variando entre um e três anos. Complementando, Akhtardanesh et al.⁷⁵ citaram que gatos adultos apresentaram 1,84 chances de serem positivos a cada ano a mais de vida e que machos tiveram 4,91 vezes mais chances de infecção pelo FIV.

Mesmo com elevados números de positivos para o FIV neste estudo, não foi verificada relação estatística entre as duas infecções, como observada em outros trabalhos^{75, 87}. Todavia, deve ser destacado que quando os fatores associados idade elevada e vida livre estão presentes concomitantemente aumenta-se em 16 [OR(3-419)] vezes a chance de se detectar as duas doenças no mesmo animal.

Desta forma, os resultados encontrados nesta pesquisa demonstraram que uma infecção não esteve associada à outra. Contudo, os fatores associados, idade igual ou superior

a seis meses e estilo de vida livre, foram os mesmos para ambas e por isso quando os dois estavam presentes a chance de se detectar as duas infecções foi aumentada.

Adverte-se que 66,6% dos animais de vida livre foram soronegativos na HAI para *T. gondii* e, portanto podem vir a representar risco à Saúde Pública em relação à toxoplasmose, pois caso venham a ingerir presas com bradizoítos, potencialmente apresentarão eliminação de oocistos nas fezes¹. Assim, medidas de controle e prevenção devem ser tomadas como fornecimento de ração e restrição de acesso à rua pelos animais, buscando reduzir as chances de tal risco, contribuindo para a saúde ambiental e preservando consequentemente a saúde humana e animal.

Finalizando, registra-se que os animais positivos para o FIV representam grande importância na clínica veterinária e na Saúde Pública, pois sendo um agente imunossupressor diversas doenças oportunistas podem acometer tais indivíduos, além de que os positivos são responsáveis pela manutenção da infecção na região.

Os resultados aqui apresentados demonstram que animais em idade reprodutiva estão mais propensos a adquirir o FIV, desta forma, medidas de controle e prevenção devem ser executadas, como a castração, tal medida visa contribuir para o controle populacional e amenizar a agressividade dos animais, o que favorecerá a diminuição de brigas e consequentemente a incidência de infectados pelo retrovírus.

Ressalta-se que este foi o primeiro trabalho a avaliar a frequência do FIV no Estado de Goiás e a elevada frequência detectada, superior às já descritas na literatura consultada, demonstrou que o agente deve ser mais estudado na região.

Como informação complementar, registra-se que, visando resguardar a saúde animal e contribuir para a Saúde Pública, foram aplicadas doses de vacina antirrábica em 50 gatos, de vida livre ou não; 16 animais foram castrados no HV/EVZ/UFG: quatro eram adultos e de proprietário; três fêmeas e um macho, ferais, os quais foram soltos após a recuperação da cirurgia; e oito filhotes dóceis que se encontravam no Campus Samambaia/UFG e que foram doados, tais atividades visaram contribuir para a guarda responsável e consequentemente com a Saúde Pública.

7. CONCLUSÕES

- A infecção pelo *Toxoplasma gondii* e pelo vírus da imunodeficiência felina está presente em gatos domésticos oriundos do município de Goiânia-GO.
- Foi identificada coinfecção entre o *T. gondii* e o FIV.
- O perfil sorológico dos gatos de Goiânia-GO frente ao *T. gondii*, detectado pela hemaglutinação indireta, foi variado, atingindo títulos elevados.
- Não foi detectado DNA de *T. gondii* nas fezes por meio da PCR convencional.
- Os fatores associados às duas infecções foram idade igual ou superior a seis meses e estilo de vida livre.

REFERÊNCIAS

1. Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. 2 ed. Boca Raton: CRC Press; 2010. 338 p.
2. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30(12-13):1217-58.
3. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. Parasitology. 2012;139(11):1375-424.
4. Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. J Eukaryot Microbiol. 2008;55(6):467-75.
5. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev. 1998;11(2):267-99.
6. Kawazoe U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves DP, editor. Parasitologia Humana. 11 ed 2005. p. 163-72.
7. Su C, Shwab EK, Zhou P, Zhu XQ, Dubey JP. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. Parasitology. 2010;137(1):1-11.
8. Dubey JP, Lindsay DS, Lappin MR. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2009;39(6):1009-34, v.
9. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet. 2004;363(9425):1965-76.
10. Araújo FAP, Teixeira MC. Toxoplasmose. In: Nápoli L, Sartor DR, Martins JP, Mello AM, Vieira HRA, Navarro I, et al., editors. Manual de Zoonoses. Curitiba: Abissal Design & Comunicação; 2009. p. 128-41.
11. Fialho CG, Teixeira MC, Araujo FAP. Toxoplasmose animal no Brasil. Acta sci vet. 2009;37(1):1-23.
12. Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. Int J Parasitol. 2008;38(11):1257-78.
13. Muñoz-Zanzi CA, Fry P, Lesina B, Hill D. *Toxoplasma gondii* oocyst-specific antibodies and source of infection. Emerg Infect Dis. 2010;16(10):3.
14. Cademartori BG. Toxoplasmose: Perfil sorológico em gestantes atendidas em Postos de Saúde do Município de Pelotas-RS Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2007.
15. Lopes FM, Mitsuka-Bregano R, Goncalves DD, Freire RL, Karigyo CJ, Wedy GF, et al. Factors associated with seropositivity for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women of Londrina, Parana, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(2):378-82.
16. Dias RC, Lopes-Mori FM, Mitsuka-Bregano R, Dias RA, Tokano DV, Reiche EM, et al. Factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in pregnant women attended in Basic Health Units in the city of Rolandia, Parana, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2011;53(4):185-91.
17. Avelino MM, Campos D, Jr., do Carmo Barbosa de Parada J, de Castro AM. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. Eur j obstet, gynecol, reprod biol. 2003;108(1):19-24.
18. Millar PR, Alves FMX, Teixeira VQ, Vicente RT, Menezes EM, Sobreiro LG, et al. Occurrence of infection with *Toxoplasma gondii* and factors associated with transmission in broiler chickens and laying hens in different raising systems. Pesqui Vet Bras. 2012;32(3):6.
19. IBGE. Pesquisa nacional de saúde - 2013 - Acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências - Brasil, grandes regiões e unidades da federação. IBGE CdTeR, editor. Rio de Janeiro: IBGE; 2015.

20. Dabritz HA, Conrad PA. Cats and Toxoplasma: implications for public health. *Zoonoses Public Health*. 2010;57(1):34-52.
21. Vargas CSG. Títulos de anticorpo da classe IgG anti - *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) e de oocistos em fezes de gatos de rua (*Felis catus* – Linnaeus, 1758) em Curitiba, Paraná Curitiba-PR: Universidade Federal do Paraná; 2006.
22. Araujo FAP, Silva NRS, Olicheski AT, Beck C, Rodrigues RJD, Fialho CG. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. *Acta sci vet*. 2003;31(2): 89-92.
23. Netto EG, Alexandre DM, George RA, Carlos WGL, ANA MARIA RF. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2003;12(4):145-9.
24. Viol MA, Soeiro CS, Aquino MCC, Ferreira VBC, Yamda DI, Garcia SD, et al. Ocorrência de *Toxoplasma gondii* em uma população de gatos domésticos (*Felis catus*) no município de Araçatuba-SP. *Anais do 35º Conbravet-Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária* [Internet]. 2008. [Acesso em 03 de julho de 2015].
25. Marques JM, Isbrecht FB, Lucas TM, Guerra IMP, Dalmolin A, Silva RC, et al. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de uma comunidade rural do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Semin, Cienc Agrar*. 2009;30(4):889-98.
26. Pinto LD, Araújo FAP, Stobb NS, Marques SMTI. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Cienc Rural*. 2009;39 (8):2464-9.
27. Dalla Rosa L, Moura AB, Trevisani N, Medeiros AP, Sartor AA, Souza AP, et al. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2010;19(4):268-9.
28. Cruz Mde A, Ullmann LS, Montano PY, Hoffmann JL, Langoni H, Biondo AW. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Parana, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2011;20(3):256-8.
29. Temoche LFC. Frequência de *Toxoplasma gondii* (Nicolle; Manceuax, 1909) em gatos (*Felis catus*, Linnaeus 1758) residentes em duas áreas distintas da américa latina Niterói-RJ: Universidade Federal Fluminense; 2012.
30. Braga Mdo S, Andre MR, Jusi MM, Freschi CR, Teixeira MC, Machado RZ. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in Sao Luis, Maranhao, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2012;21(2):107-11.
31. Covre KC. Frequência de resultados positivos para *Toxoplasma gondii* em exames sorológicos realizados em cães e gatos na região metropolitana de Vitória, Espírito Santo, Brasil Vitória -ES: Universidade Federal do Espírito Santo; 2014.
32. Bastos BF, Brener B, Gershony L, Willi L, Labarthe N, Pereira C, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) and retroviral status of client-owned pet cats (*Felis catus*, Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;56(3):201-3.
33. Garcia JLI, Navarro T, Ogawa L, De Oliveira RC. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*. 1999;29(1):99-104.
34. Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Exp parasitol*. 2010;124(1):10-25.

35. Dubey JP, Frenkel JK. Immunity to Feline Toxoplasmosis: Modification by Administration of Corticosteroids. *Vet Pathol.* 1974;11:350-79
36. Dubey JP. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J Parasitol.* 1995;81(3):410-5.
37. Zulpo DL. *Toxoplasma gondii* e gatos domésticos: Uso de uma vacina para diminuir a eliminação de oocistos e avaliação da reeliminação. Londrina-PR: Universidade Estadual de Londrina; 2014.
38. Kijlstra A, Jongert E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int J Parasitol.* 2008;38(12):1359-70.
39. Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(1):55-62.
40. Cornelissen JB, van der Giessen JW, Takumi K, Teunis PF, Wisselink HJ. An experimental *Toxoplasma gondii* dose response challenge model to study therapeutic or vaccine efficacy in cats. *PLoS One.* 2014;9(9):1-9.
41. Pena HF, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* infection in cats from Sao Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Res Vet Sci.* 2006;81(1):58-67.
42. Salant H, Markovics A, Spira DT, Hamburger J. The development of a molecular approach for coprodiagnosis of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol.* 2007;146(3-4):214-20.
43. Dabritz HA, Miller MA, Atwill ER, Gardner IA, Leutenegger CM, Melli AC, et al. Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;231(11):1676-84.
44. Dubey JP, Moura L, Majumdar D, Sundar N, Velmurugan GV, Kwok OC, et al. Isolation and characterization of viable *Toxoplasma gondii* isolates revealed possible high frequency of mixed infection in feral cats (*Felis domesticus*) from St Kitts, West Indies. *Parasitology.* 2009;136(6):589-94.
45. Berger-Schoch AE, Herrmann DC, Schares G, Muller N, Bernet D, Gottstein B, et al. Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. *Vet Parasitol.* 2011;177(3-4):290-7.
46. Stojanovic V, Foley P. Infectious disease prevalence in a feral cat population on Prince Edward Island, Canada. *The Canadian Veterinary Journal.* 2011;52(9):979-82.
47. Dubey JP, Darrington C, Tiao N, Ferreira LR, Choudhary S, Molla B, et al. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from tissues and feces of cats from Addis Ababa, Ethiopia. *J Parasitol.* 2013;99(1):56-8.
48. Lilly EL, Wortham CD. High prevalence of *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in stray and pet cats (*Felis catus*) in Virginia, United States. *Parasit Vectors.* 2013;6:266.
49. Esteves F, Aguiar D, Rosado J, Costa ML, de Sousa B, Antunes F, et al. *Toxoplasma gondii* prevalence in cats from Lisbon and in pigs from centre and south of Portugal. *Vet Parasitol.* 2014;200(1-2):8-12.
50. Montoya JG. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 2002;15(185):73-82.
51. Fialho CG, Araújo FAP. Comparação entre os testes de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de suínos. *Acta sci vet.* 2002;30(3):185- 9.
52. Silva CC. Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em felídeos selvagens nos municípios de capitão poço e Belém, Pará Belém: Universidade Federal do Pará; 2008.

53. Dubey JP, Yabsley MJ. *Besnoitia neotomofelis* n. sp. (Protozoa: Apicomplexa) from the southern plains woodrat (*Neotoma micropus*). *Parasitology*. 2010;137(12):1731-47.
54. Salant H, Spira DT, Hamburger J. A comparative analysis of coprologic diagnostic methods for detection of *Toxoplasma gondii* in cats. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;82(5):865-70.
55. Teixeira BM. Ocorrência da infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e da leucemia felina em gatos de Belo Horizonte, Minas Gerais Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2005.
56. Alves F, Reis JKP. Feline Immunodeficiency [Internet]. Intech: Intechiopen; 2012 [agust 7th, 2014]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/immunodeficiency/feline-immunodeficiency>.
57. Lara VM, Taniwaki SA, Araújo Jr JP. Caracterização filogenética de amostras do vírus da imunodeficiência felina (FIV) do Estado de São Paulo. *Pesqui Vet Bras*. 2007;27(11):467-70.
58. Silva AV, Castro CC, Finger PF, Silva DS, Taniwaki SA, Ullmann LS, et al. Ocorrência do subtipo B do vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos da região sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2014;66 (1):1-6.
59. Teixeira BM. Identificação e caracterização do vírus da imunodeficiência felina de amostras obtidas de felinos mantidos em um abrigo na cidade de São Paulo São Paulo-SP: Universidade de São Paulo; 2010.
60. Hartmann K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Vet Immunol Immunopathol*. 2011;143(3-4):190-201.
61. Teixeira BM, Hagiwara MK, Cruz JC, Hosie MJ. Feline immunodeficiency virus in South America. *Viruses*. 2012;4(3):383-96.
62. Rivetti Jr AV. Retrovíroses, *Toxoplasma gondii* e *Mycoplasma haemofelis* em gatos errantes e felinos selvagens do zoológico de Belo Horizonte - MG Belo Horizonte-MG: Universidade Federal de Minas Gerais; 2006.
63. Silva FRC. Prevalência Das Infecções Pelo Vírus Da Leucemia Viral Felina E Da Imunodeficiência Viral Felina Na Cidade De Porto Alegre Porto Alegre-RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
64. Alves F. Padronização de um ELISA indireto para o diagnóstico da imunodeficiência felina a vírus Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2010.
65. Sobrinho LSV, Vides JP, Braga ET, Gomes AAD, Rossi CN, Marcondes M. Sorofrequência de infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina em gatos do município de Araçatuba, São Paulo. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2011;48(5):378-83
66. Rosa VM, Oliveira JCV, Bettini CM, Alvares AAA, editors. Estudo Epidemiológico De Infecções Pelo Vírus Da Leucemia E Imunodeficiência Felina, Em Gatos Domésticos Do Município De Maringá. VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar; 2011 25 a 28 de outubro; Maringá-PR.
67. Martins ES, Tognoli GK, Iilha PHO, Mazzotti GA. Prevalência De Imunodeficiência Viral Felina E Leucemia Viral Felina No Distrito Federal. *Arch vet sci*. 2012;17(1 Supl 1 - 33o).
68. Montañó PY, Gizzi ABR, Leutenegger C, Biondo AW, Dittrich RL, editors. Ocorrência De Coinfecções Em Gatos Domésticos Anêmicos e não Anêmicos. 34º CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA - CBA; 2013; Nata-RN.
69. Carneiro AL, Medeiros S, Dias CG, Caridade A. Ocorrência dos Vírus da Imunodeficiência e da Leucemia Felina no Rio de Janeiro Avaliada Através da Sorologia e da

PCR em Tempo Real. 2014 [july 7th, 2015]. Available from: http://www.petsa.com.br/uploads/trabalhos2014/0140231_1_000003.pdf.

70. Alves F, Reis JKP, Vieira FO, Del Puerto HL, Braz GF, Rajão DS, et al. Retrovírus em felinos domésticos: um problema de saúde pública. NBC Research Biochemicals. 2011;1(2):1-16.

71. Rajão DS, Braz GF, Alves F, Almeida NR, Mazur C. Imunodeficiência viral felina. In: Marques Jr AP, Heinemann MB, editors. Retrovírus dos animais domésticos. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora; 1999. p. 10-3.

72. Rivetti Jr AV, Caxito FA, Resende M, Lobato ZIP. Avaliação sorológica para *Toxoplasma gondii* pela imunofluorescência indireta e detecção do vírus da imunodeficiência felina pela nested PCR em felinos selvagens. Arq Bras Med Vet Zootec. 2008;60(5):1281-3.

73. Zanutto MS. Dinâmica da infecção toxoplásmica em felinos infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Felina. São Paulo-SP: Universidade de São Paulo; 2005.

74. Lin DS, Bowman DD, Jacobson RH. Immunological changes in cats with concurrent *Toxoplasma gondii* and feline immunodeficiency virus infections. J Clin Microbiol. 1992;30(1):17-24.

75. Akhtardanesh B, Ziaali N, Sharifi H, Rezaei S. Feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray and household cats in Kerman-Iran: seroprevalence and correlation with clinical and laboratory findings. Res Vet Sci. 2010;89(2):306-10.

76. Dorny P, Speybroeck N, Verstraete S, Baeke M, De Becker A, Berkvens D, et al. Serological survey of *Toxoplasma gondii*, feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in urban stray cats in Belgium. Vet rec. 2002;151(21):626-9.

77. Dubey JP, Lappin MR, Kwok OC, Mofya S, Chikweto A, Baffa A, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and concurrent *Bartonella* spp., feline immunodeficiency virus, and feline leukemia virus infections in cats from Grenada, West Indies. J Parasitol. 2009;95(5):1129-33.

78. Sobrinho LS, Rossi CN, Vides JP, Braga ET, Gomes AA, de Lima VM, et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. Vet Parasitol. 2012;187(1-2):302-6.

79. Sukhumavasi W, Bellosa ML, Lucio-Forster A, Liotta JL, Lee AC, Pornmingmas P, et al. Serological survey of *Toxoplasma gondii*, *Dirofilaria immitis*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) infections in pet cats in Bangkok and vicinities, Thailand. Vet Parasitol. 2012;188(1-2):25-30.

80. Tiao N, Darrington C, Molla B, Saville WJ, Tilahun G, Kwok OC, et al. An investigation into the seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, *Bartonella* spp., feline immunodeficiency virus (FIV), and feline leukaemia virus (FeLV) in cats in Addis Ababa, Ethiopia. Epidemiol Infect. 2013;141(5):1029-33.

81. Gorrel C. O dente e o seu periodonto. In: Gorrel, C. Odontologia em pequenos animais [Internet]. 2010 [jun 16th, 2015]. Available from: https://books.google.com.br/books?id=o5Ey9gpeQ7AC&pg=PT19&lpg=PT19&dq=O+dente+e+o+seu+periodonto+Odontologia+em+pequenos+animais&source=bl&ots=cOh-utoqjy&sig=ocSIe3AR_fhmDbMztkIJqCtHTk&hl=pt-BR&sa=X&ei=qySbVeHUG8ydwgT9mb6AAQ&ved=0CCIQ6AEwAQ#v=onepage&q=O%20dente%20e%20o%20seu%20periodonto%20Odontologia%20em%20pequenos%20animais&f=false.

82. Silveira Neto OJ. Perfil soroepidemiológico e detecção molecular de *Toxoplasma gondii* em *Gallus gallus* e *Columba livia* da região metropolitana de Goiânia, Goiás. Goiânia-GO: Universidade Federal de Goiás; 2013.
83. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. In: R Foundation for Statistical Computing V, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. editor. 2015.
84. Rezende HHA. Prevalência de parasitos intestinais em gatos errantes em Goiânia – Goiás: Ênfase no diagnóstico de *Toxoplasma gondii* e avaliação da acurácia de técnicas parasitológicas Goiânia-GO: Universidade Federal de Goiás; 2015.
85. Opsteegh M, Haveman R, Swart AN, Mensink-Beerepoot ME, Hofhuis A, Langelaar MF, et al. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats in The Netherlands. *Prev Vet Med*. 2012;104(3-4):317-26.
86. Moura AB, Trevisani N, Quadros RM, Ledo G, Souza AP, Sartor AA. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em gatos apreendidos pelo Centro de Controle de Zoonoses de Lages, SC. *Arch vet sci*. 2015;20(1):01-7.
87. Al-Kappany YM, Lappin MR, Kwok OC, Abu-Elwafa SA, Hilali M, Dubey JP. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and concurrent *Bartonella* spp., feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, and *Dirofilaria immitis* infections in Egyptian cats. *J Parasitol*. 2011;97(2):256-8.
88. Montaña PY. Ocorrência De Coinfecções Em Gatos Domésticos Anêmicos E Não Anêmicos Curitiba -PR: Universidade Federal do Paraná; 2014.
89. Davidson MG, Rottman JB, English RV, Lappin MR, Tompkins MB. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am J Pathol*. 1993;143(5):1486-97.