

***Toxoplasma gondii* em suínos com ênfase na contribuição brasileira**

Toxoplasma gondii in swine with emphasis in Brazilian contribution

**Aristeu Vieira da Silva¹, Rodrigo Costa da Silva², Thiago de Oliveira Zamprogna³,
Thays Mizuki Lucas³**

¹ Doutor em Doenças Tropicais. Professor do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia

² Doutor em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo. Bolsista de Post-doc da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

³ Médicos Veterinários. Ex-bolsistas do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica/Universidade Paranaense, Umuarama, Paraná.

RESUMO

Objetivos: revisar a literatura nacional referente aos principais dados de estudos de toxoplasmose sobre a epidemiologia, patologia e imunologia, frequência de anticorpos e isolamento do parasito em suínos, e as literaturas nacional e internacional sobre avaliação molecular de cepas isoladas de suínos. **Fonte de dados:** foram pesquisadas as bases de dados Scielo, Scopus, Science Direct e Google Scholar. **Síntese dos dados:** a toxoplasmose em suínos apresenta alta prevalência sorológica e de identificação do parasito, por isolamento ou detecção de DNA, em grande parte do território nacional, causando problemas neurológicos, reprodutivos e econômicos e aumentando o risco de transmissão para a população humana. As principais fontes de infecção para os suínos ainda são os gatos errantes, responsáveis pela disseminação e adaptação do parasito a novos hospedeiros e condições de sobrevivência alternativas. A biologia molecular trouxe grande contribuição, não somente para a detecção em amostras de animais mortos, mas, principalmente, na elucidação do comportamento evolutivo do parasito na espécie suína. **Conclusões:** a toxoplasmose em suínos é um problema real tanto na criação como produção de alimentos, o que resulta em grave problema econômico e de saúde pública. Apresenta prevalência variável em suínos no mundo e alta variabilidade genotípica, principalmente na América do Sul.

Descritores: TOXOPLASMA; TOXOPLASMOSE ANIMAL/epidemiologia; TOXOPLASMOSE ANIMAL/diagnóstico; TOXOPLASMOSE ANIMAL/patologia; TOXOPLASMOSE/economia; TOXOPLASMOSE/transmissão; DOENÇAS DOS SUÍNOS; SUÍNOS; ECONOMIA DOS ALIMENTOS; SAÚDE PÚBLICA

ABSTRACT

Aims: To review the national literature of toxoplasmosis about epidemiology, pathology, immunology, antibody frequency and parasite isolation in swine, and the national and international literature on molecular evaluation of strains isolated from swine. **Source of data:** Survey was performed in Scielo, Scopus, Science Direct and Google Scholar databases. **Summary of findings:** Toxoplasmosis in swine presents high serological prevalence and parasite identification by isolation or DNA detection, is widely distributed in national territory, causing neurological, reproductive, and economical problems, and increases the risk of transmission to human population. Errant cats, which are the main source of infection to swine, are responsible for the dissemination and adaptation of the parasite to new hosts and alternative survival conditions. Molecular biology contributed significantly to the parasite detection in samples from dead animals and, particularly, in the elucidation of the parasite evolutionary behavior in swine species. **Conclusions:** Toxoplasmosis in swine is a real problem in both breeding and food production, becoming a serious problem to public health. It presents a variable prevalence in swine around the world, and presents high genotypic variability, particularly in South America.

Keywords: TOXOPLASMA; TOXOPLASMOSIS, ANIMAL/epidemiology; TOXOPLASMOSIS, ANIMAL/diagnosis; TOXOPLASMOSIS, ANIMAL/patology; TOXOPLASMOSIS/economics; TOXOPLASMOSIS/transmission; SWINE DISEASES; SWINE; FOOD ECONOMICS; PUBLIC HEALTH

Endereço para correspondência/Corresponding Author:

ARISTEU VIEIRA DA SILVA
Universidade Estadual de Feira de Santana – Dep. de Ciências Biológicas
Rodovia Transnordestina, s/n – Novo Horizonte
CEP 44.036-900, Feira de Santana, BA, Brasil
Tel./Fax: 75-3224-8019
E-mail: aristeuvsilva@gmail.com

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é classificado no filo Apicomplexa, tendo como parentes próximos na família Sarcocystidae, os parasitas dos gêneros Sarcocystis, Frenkelia, Hammondia e Neospora. O ciclo de vida do *T. gondii* é facultativamente heteroxeno: os felídeos são os hospedeiros definitivos, enquanto que provavelmente todos os animais homeotérmicos são hospedeiros intermediários. A toxoplasmose é uma das zoonoses parasitárias mais comuns, causando também perdas econômicas significativas à pecuária. O homem e os animais podem infectar-se por três formas do ciclo de vida do agente: (1) via oral pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes de felídeos e infectantes após esporulação em um a cinco dias, em condições ambientais favoráveis; (2) pela ingestão de cistos em tecidos de hospedeiros intermediários; e (3) via uterina pela transmissão transplacentária de taquizoítos. O *T. gondii* também pode ser transmitido em produtos sanguíneos, transplantes de órgãos, ou pela ingestão de taquizoítos em leite caprino não pasteurizado¹.

Na vida pós-natal, os seres humanos infectam-se, na maioria das vezes, pela ingestão de oocistos esporulados encontrados no meio-ambiente ou pela ingestão de cistos teciduais em carne crua ou mal cozida de hospedeiros intermediários. Entretanto, não se sabe qual destas vias é epidemiologicamente mais importante, sendo provável que as fontes principais de infecção pelo *T. gondii* sejam diferentes em populações humanas com hábitos culturais e alimentares distintos.¹ Os casos em adultos imunodeprimidos representam principalmente a reativação de focos de infecção prévia, e Frenkel² pondera que, nos Estados Unidos da América, a infecção de adultos se daria pela ingestão de carne mal cozida, um hábito adquirido culturalmente.

A despeito de não se poder precisar exatamente a importância dos animais de produção na transmissão da toxoplasmose para o ser humano, sabe-se que entre as espécies exploradas para produção de carne a suína é a que representa a maior fonte de infecção em muitos países.³ No Brasil, o consumo de carne suína, apesar de ser menor que o de bovinos e aves,⁴ pode oferecer risco de infecção, principalmente se não houver cuidados sanitários na produção desses animais. Soma-se a este fato o perfil do consumidor, que pode propiciar hábitos de risco. Trabalho realizado em Belo Horizonte apontou que 71,6% das pessoas entrevistadas não se preocupavam com a origem do produto e 25,7% compravam produtos no local mais conveniente ou pelo melhor preço.⁵ Não se tem conhecimento de vigilância epidemiológica nos animais destinados ao abate. Deste

modo, a ausência de exames sorológicos nos animais destinados ao abate permite que os produtos cárneos sejam comercializados livremente, sem fiscalização, visto que na linha de abate não é possível detectar a presença do parasito.

Dada a importância da infecção pelo *T. gondii* para a produção de suínos, bem como os riscos que a carne de animais infectados pode representar para o ser humano, este artigo teve como objetivo revisar a produção bibliográfica nacional e internacional sobre a infecção pelo *T. gondii* nesses animais.

EPIDEMIOLOGIA

A toxoplasmose suína como doença natural foi diagnosticada pela primeira vez nos Estados Unidos da América, em 1952, por Farrel et al.,⁶ em rebanho que apresentava elevada mortalidade em todas as faixas etárias, e deste então se têm verificado casos de pneumonia, encefalite e aborto causando prejuízos econômicos para as regiões que desenvolvem a suinocultura.⁷ No Brasil, a toxoplasmose suína foi diagnosticada pela primeira vez por Silva⁸ no Estado de Minas Gerais, em 1959. A partir de então diversos grupos têm evidenciado a importância do *T. gondii* como infecção e da toxoplasmose como enfermidade da esfera reprodutiva em suínos no Brasil.^{7,23,24,25}

Entre os fatores relacionados com a ocorrência da infecção em suínos, o sexo dos animais foi apontado por alguns autores,^{9,10,11,12} sendo sempre mais frequente em fêmeas do que em machos. Este comportamento, entretanto, provavelmente deve-se mais a um viés de amostragem do que a uma suscetibilidade ligada ao sexo. Prováveis variáveis confundidoras, não avaliadas nos trabalhos citados, podem ser os reais fatores associados, como apontaram Brito et al.,¹³ que verificaram que a maior prevalência de infecção em cães machos não estava realmente ligada ao sexo, mas sim ao fato desses animais receberem vísceras cruas como alimento, o que seria o fator de risco associado.

Outro fator relevante apontado na literatura^{14,15,16,17} é a idade do animal. Esta é importante na avaliação do risco de infecção pelo consumo de carne suína e seus derivados. Geralmente a carne *in natura* é oriunda de animais jovens, enquanto que muitas vezes os embutidos são produzidos com carne de animais de descarte, normalmente de maior idade e, de acordo com a literatura, mais frequentemente infectados.

Poucos trabalhos, entretanto, podem ser considerados estudos de prevalência, com amostragem significativa e de composição aleatória, o que prejudica a extrapolação dos achados para outras populações.

Carletti et al.¹⁸ apontaram maior frequência de positivos em matrizes, quando comparadas aos animais de terminação, e Bezerra et al.⁹ verificaram que a positividade foi maior em animais oriundos de abates clandestinos. Desta maneira, o sistema de criação (intensiva x extensiva)^{9,19} e o grau de tecnificação¹⁴ são apontados como fatores de risco para a infecção de suínos.

O contato direto ou indireto com outras espécies de animais, tais como gatos e roedores, também tem sido incriminado como fator de risco.^{19,20} Além disso, fatores relacionados ao manejo, como a presença de lâmina d'água nas pocilgas, bebedouro tipo canaleta e a presença de áreas alagadiças nas propriedades, foram associados à maior prevalência da infecção.¹⁹

O risco de infecção pelo consumo de embutidos produzidos com carne de suínos tem sido investigado em trabalhos experimentais. O tratamento da carne com cloreto de sódio a 3% demonstrou inativar os parasitos em 85% das amostras tratadas por um período de pelo menos três dias.²¹ Navarro et al.²² apontam que 48 horas são suficientes para inativar o parasito, se o sal for aplicado em concentração de pelo menos 2%; por outro lado, estes autores verificaram que outros condimentos não tiveram nenhuma atividade contra o parasito.

PATOLOGIA E IMUNOLOGIA

Os trabalhos brasileiros também têm investigado a patologia da infecção pelo *T. gondii* em suínos, bem como as alterações imunológicas relacionadas a ela. Vidotto et al.²³ inocularam porcas entre os dias 42-50 (grupo 1) e 70-93 (grupo 2) da gestação, com oocistos da cepa AS28. Todas as porcas do grupo 1 abortaram entre oito e nove dias após a infecção, enquanto que no grupo 2 foi observada mumificação fetal. Além do aborto, as porcas apresentaram taquiplnéia, corrimento nasal, lacrimejamento e prostração. Neutropenia, linfocitose e monocitose foram registrados no grupo 1, e eosinopenia ocorreu em ambos os grupos. Parasitemia foi registrada a partir do terceiro dia até 46 dias pós infecção.²⁴ Nos exames anatomopatológicos das porcas foram encontradas congestão e hemorragias de sistema nervoso central, fígado, pulmões, linfonodos, baço, rins, musculatura esquelética e porção final do intestino delgado. Nos fetos e leitões as lesões foram do tipo hemorrágico ou congestivo, principalmente em sistema nervoso central, fígado, pulmões, baço, rins, pâncreas, linfonodos, musculatura esquelética e intestino grosso.²⁵

Casos de toxoplasmose congênita natural foram registrados por Giraldo et al.²⁶ em granjas de suínos

em Londrina, no Paraná. De um total de 43 matrizes associadas com abortamento, natimortos ou mortos após o nascimento, 24 (55,81%) eram positivas para anticorpos séricos anti-*T. gondii*. Em cinco casos foi detectada parasitemia, e em 12 casos os camundongos inoculados com amostras provenientes dos animais abortados ou natimortos apresentaram anticorpos contra o parasito. A imunohistoquímica também foi positiva em 12 dos 20 casos examinados, sendo marcados taquizoítos e cistos teciduais em amostras de cérebro, baço, fígado, retina, musculatura e pulmões.

Da Silva et al.²⁷ avaliaram a imunogenicidade e antigenicidade de cinco amostras de *T. gondii* quando inoculadas pela via endovenosa em suínos. Os títulos individuais variaram de 256 a 4096 aos 19 dias pós infecção, e de 1024 a 32768 aos 44 dias pós infecção. A adsorção dos soros com antígeno homólogo ou heterólogo levou a alterações semelhantes entre as amostras. Os autores verificaram que os antígenos de superfície são comuns às diversas amostras avaliadas, com papel imunodominante na resposta de produção de anticorpos.

Num outro estudo, suínos vacinados com antígenos incorporados a complexos imunoestimulantes (*immune stimulating complexes* – ISCOMs) apresentaram elevada produção de anticorpos, sem manifestar sinais clínicos após desafio com oocistos de uma cepa heteróloga. Apesar do reisolamento do parasito de tecidos de animais de outros grupos que não o vacinado e da intensa resposta humoral por esses animais, os autores não excluíram a possibilidade de formação de cistos teciduais nos animais vacinados.²⁸

Nishi²⁹ investigou a expressão de genes associados à resposta imune em suínos inoculados pela via oral com oocistos da cepa VEG. Como em seres humanos e murinos, os suínos apresentaram uma resposta inicial relacionada a mecanismos inatos e de inflamação aguda, com expressão de interleucina (IL)-1, IL-6, interferon (IFN)- γ e fator de necrose tumoral (TNF)- α . Houve estimulação de uma resposta Th1, com balanceamento das citocinas regulatórias IL-10, fator de crescimento transformante (TGF)-B1 e TGF-B3, e participação de células NK (*natural killer*), porém, a modulação da resposta imune pela utilização de β -glucana não surtiu efeito protetor na infecção aguda por taquizoítos em suínos.³⁰ O início da resposta se deu aos dois dias pós infecção, com picos aos quatro e sete e diminuição aos 14 dias.²⁹

A possibilidade de alterações espermáticas em suínos foi investigada por Moura et al.³¹ Foram inoculados animais com oocistos da cepa P, pela via oral, ou taquizoítos da cepa RH, pela via subcutânea. A despeito de não promoverem alterações espermáticas,

foram detectados parasitos, seja pela bioprova em camundongos, seja pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em sêmen e nos órgãos reprodutivos, indicando a possibilidade de transmissão venérea.³²

O comprometimento do sistema digestivo de suínos experimentalmente infectados foi investigado por Silva.³³ Em cinco animais infectados pela via oral com 5.000 oocistos da cepa M7741 (genótipo III) de *T. gondii*, aos 30 DPI foi verificado aumento de 4,2% na espessura da parede do jejuno, 9,7% na altura dos vilos e 23,9% na túnica muscular. Aos 60 DPI as alterações intensificaram-se, com aumento de 25,1% na parede total, 18,6% na túnica muscular, 32,0% na túnica mucosa e 12,8% na altura dos vilos. Por outro lado, nos mesmos animais, não foi encontrada morte neuronal, mas hipertrofia de neurônios NADPH-diaforase-positivos,³⁴ que são os neurônios mientéricos nitrérgicos, principais células nervosas motoras inibitórias no sistema nervoso entérico. O conjunto desses achados permitiu aos autores concluir que a infecção pelo parasito levou a um processo de aumento de contratilidade, provavelmente uma resposta para eliminação da infecção, evidenciada principalmente pela ocorrência de diarreia nos animais experimentalmente infectados, durante todo o experimento.

DETECÇÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS

A detecção de anticorpos séricos, como em outras espécies, é o método mais frequentemente utilizado na determinação da infecção pelo *T. gondii* em suínos. No Brasil, desde 1972 (Tabela 1) tem se registrado a frequência de anticorpos séricos em várias regiões. A utilização de diferentes métodos, antígenos comerciais ou preparados em cada laboratório, bem como os pontos de corte utilizados, limitam a comparação dos resultados. De uma forma geral verifica-se que, em suínos provenientes de granja e em idade de abate comercial, a frequência de anticorpos tem diminuído, como referido por autores em outros países⁶⁵. Este comportamento, segundo a maioria dos autores, deve-se ao aumento da tecnificação das propriedades, com forte impacto das medidas de biossegurança na prevalência da infecção.⁶⁶

A pesquisa internacional tem contribuído também na validação dos métodos de detecção de anticorpos. A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste aglutinação direta modificada (MAT) reconhecem anticorpos dirigidos a antígenos de superfície do parasito, enquanto que a hemaglutinação (HA) e o ELISA, normalmente reconhecem também antígenos citoplasmáticos, tendendo a detectar anticorpos mais tardios. Os resultados de Minho et al.⁶⁸ são

interessantes, pois não encontraram diferenças entre a RIFI e o MAT. Segundo Dubey et al.,⁶⁹ o MAT é um teste de elevada sensibilidade para uso em suínos, com elevada especificidade analítica,⁷⁰ sendo menos sensível apenas que o ELISA.⁷¹

ISOLAMENTO DO PARASITO

A despeito da importância dos levantamentos de anticorpos séricos como instrumento de vigilância epidemiológica, apenas o isolamento de parasitas viáveis de produtos cárneos permite avaliar o risco real para a saúde pública. A Tabela 2 sumaria os resultados obtidos a partir de amostras naturalmente contaminadas.

Os resultados variam em função do tipo de amostra examinada e do método de bioprova utilizado. No Brasil utiliza-se com frequência o isolamento em camundongos, que é menos sensível, por exemplo, que o isolamento em gatos, devido à quantidade de amostra que pode ser administrada em cada modelo.⁶⁵ Como os cistos de *T. gondii* podem estar irregularmente distribuídos na amostra, a chance de isolamento diminui se a quantidade de tecido examinada for pequena.

Almeida et al.⁷² relataram surto intrafamiliar de toxoplasmose em Santa Vitória do Palmar, RS. Na investigação epidemiológica realizada, o consumo de copa, um embutido produzido com carne suína esteve associada à infecção pelo parasito. A inoculação da amostra de copa em camundongos resultou na soroconversão dos mesmos, indicando a possibilidade da presença de parasitos viáveis na amostra.

APLICAÇÃO MOLECULAR NO DIAGNÓSTICO E PESQUISA

A necessidade de métodos diagnósticos mais precisos e sensíveis fez com o que o estudo do material genético assumisse uma nova perspectiva para o sucesso diagnóstico e uma nova vertente a ser explorada para os vários microrganismos, a partir da descoberta da PCR por Kary Mullis em 1985,⁷³ incluindo *T. gondii*. Porém é importante enfatizar que a detecção molecular do DNA de *T. gondii* não substitui os métodos diagnósticos tradicionais no diagnóstico da doença. Assim, a associação de dois ou mais métodos diagnósticos revela a instalação da infecção e auxilia na discriminação do estágio da mesma.⁷⁴ Dessa forma, a detecção molecular do agente apresenta grande importância e, dependendo das técnicas utilizadas, permite caracterizar a estrutura populacional clonal e analisar a evolução populacional do parasito. A manifestação clínica da infecção estará intimamente ligada às mutações ocorridas na estrutura populacional.

Tabela 1. Frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos no Brasil

| Ano | Local | Categoria | Número examinado | % Positivos | Teste | Ponto de corte | Referência |
|------|------------------------------------|-----------------------------|------------------|-------------|-------|----------------|------------|
| 1972 | São Paulo | | 10 | 60,0 | SF | - | 35 |
| 1975 | São Paulo e Rio Grande do Sul | Abatedouro | 206 | 22,8 | HAI | 256 | 36 |
| 1976 | Minas Gerais | - | 900 | 29,9 | RIFI | - | 37 |
| 1978 | São Paulo, SP | Abatedouro | 513 | 25,7 | RIFI | 20 | 38 |
| 1978 | Botucatu, SP | Granjas | 487 | 19,1 | RIFI | 20 | 38 |
| 1978 | São Paulo, SP | Abatedouro | 328 | 32,8 | RIFI | 16 | 39 |
| 1978 | Jaboticabal, SP | Granjas | 960 | 24,6 | HAI | 64 | 40 |
| 1979 | São Paulo | Granjas | 409 | 47 | RIFI | - | 41 |
| 1984 | Rio Grande | - | 2142 | 11,0 | LAT | - | 42 |
| 1986 | São Paulo | Abatedouro | 273 | 57,9 | RIFI | 16 | 43 |
| 1986 | São Paulo | Abatedouro | 273 | 42,1 | HA | 16 | 43 |
| 1988 | Santa Catarina | Granjas | 1033 | 1,2 | HAI | 64 | 44 |
| 1990 | Paraná | Granjas | 1131 | 37,8 | RIFI | 64 | 45 |
| 1992 | Igarapé, MG | Semi-intensivo | 198 | 90,4 | RIFI | 16 | 46 |
| 1995 | Rio Grande do Sul | Abatedouro | 200 | 18,0 | HAI | 64 | 47 |
| 1997 | Erechim, RS | Abatedouro | 274 | 7,3 | RIFI | 16 | 12 |
| 1998 | Erechim, RS | Abatedouro | 792 | 14,0 | RIFI | 16 | 48 |
| 1998 | Erechim, RS | Abatedouro | 792 | 16,7 | ELISA | - | 48 |
| 1999 | Paraná | Granjas | 267 | 24,0 | RIFI | 64 | 49 |
| 1999 | Goiânia, GO | Matrizes | 829 | 27,7 | HAI | 64 | 50 |
| 2000 | São Paulo, SP | Abatedouro | 300 | 9,6 | ELISA | 0,270 | 51 |
| 2000 | São Paulo, SP | Abatedouro | 300 | 21,0 | HA | 16 | 51 |
| 2000 | Santa Catarina e Rio Grande do Sul | Granjas de manejo intensivo | 114 | 45,6 | MAT | 25 | 52 |
| 2000 | Santa Catarina e Rio Grande do Sul | Granjas de manejo extensivo | 115 | 86,1 | MAT | 25 | 52 |
| 2003 | Porto Alegre, RS | Abatedouro | 240 | 33,7 | RIFI | 16 | 53 |
| 2003 | Porto Alegre, RS | Abatedouro | 240 | 20,0 | HAI | 16 | 53 |
| 2003 | Paraná | Cachaços | 40 | 1,2 | RIFI | 64 | 19 |
| 2003 | Paraná | Marrãs | 157 | 3,8 | RIFI | 64 | 19 |
| 2003 | Paraná | Matrizes | 324 | 10,4 | RIFI | 64 | 19 |
| 2005 | São Paulo | Granjas | 500 | 0,8 | RIFI | 64 | 54 |
| 2005 | Pernambuco | Granjas | 259 | 4,7 | RIFI | 64 | 54 |
| 2005 | São Paulo e Pernambuco | Granjas | 759 | 1,32 | MAT | 64 | 54 |
| 2005 | Paraná | Terminação | 395 | 2,8 | RIFI | 64 | 18 |
| 2005 | Paraná | Matriz | 29 | 20,7 | RIFI | 64 | 18 |
| 2005 | São Paulo | Abatedouro | 286 | 17,0 | MAT | 25 | 55 |
| 2005 | Pelotas, RS | Granjas | 195 | 9,2 | HAI | 16 | 20 |
| 2005 | Pelotas, RS | Granjas | 195 | 13,9 | RIFI | 16 | 20 |
| 2006 | Minas Gerais | Granjas | 72 | 0,0 | - | - | 56 |
| 2006 | Barra Mansa, RJ | Granjas | 38 | 65,8 | RIFI | 16 | 57 |
| 2006 | Rondônia | Granjas | 80 | 33,5 | MAT | 25 | 58 |
| 2006 | Rondônia | Granjas | 80 | 37,5 | RIFI | 25 | 58 |
| 2007 | São Paulo | Abatedouro | 213 | 8,5 | RIFI | - | 59 |
| 2007 | Guarapuava, PR | Abatedouro | 117 | 8,5 | RIFI | 65 | 10 |
| 2007 | Registro, SP | Granjas | 550 | 20,2 | MAT | 64 | 60 |
| 2007 | Ponte Nova, MG | Abatedouro | 150 | 0,0 | MAT | 16 | 61 |
| 2007 | São Manuel, SP | Abatedouro | 75 | 0,0 | MAT | 16 | 61 |
| 2007 | Ubá, MG | Abatedouro | 37 | 0,0 | MAT | 16 | 61 |
| 2008 | Umuarama, PR | Abatedouro | 226 | 1,8 | MAT | 25 | 14 |
| 2008 | Paraná | Granjas | 78 | 23,1 | MAT | 25 | 14 |
| 2008 | Iperó, PR | Abatedouro | 259 | 0,4 | MAT | 25 | 15 |
| 2008 | Umuarama, PR | Granjas | 94 | 28,7 | MAT | 25 | 15 |
| 2008 | Paraná | Terminação | 322 | 23,3 | RIFI | 64 | 62 |
| 2008 | Paraná | Adultos | 86 | 33,7 | RIFI | 64 | 62 |
| 2009 | Bahia | Granja | 371 | 14,8 | ELISA | 16 | 9 |
| 2009 | Bahia | Rústico | 94 | 31,9 | ELISA | 16 | 9 |
| 2009 | São Paulo | Granja | 108 | 6,5 | MAT | 16 | 63 |
| 2009 | São Paulo | Abatedouro | 198 | 35,0 | MAT | 16 | 63 |
| 2009 | Paraíba | | 130 | 36,2 | RIFI | 50 | 64 |

SF: Sabin-Feldman; RIFI: reação de imunofluorescência indireta; HA: hemaglutinação indireta; MAT: aglutinação direta; ELISA: ensaio imunoenzimático.

Tabela 2. Isolamento de *T. gondii* em camundongos a partir de tecidos de suínos no Brasil

| Ano de publicação | Local | Número examinado | Positivos | | Material avaliado* | Referência |
|-------------------|---------------------------|------------------|-----------|------|--------------------------|------------|
| | | | Número | % | | |
| 1969 | São Paulo | 25 | 8 | 32 | Diafragma | 67 |
| 1969 | São Paulo, SP | 73 | 5 | 6,8 | Musculatura | 68 |
| 1969 | São Paulo, SP | 10 | 0 | 0,0 | Embutido | 68 |
| 1977 | Minas Gerais | 159 | 1 | 0,6 | Diafragma | 69 |
| 1977 | Minas Gerais | 98 | 4 | 4,0 | Cérebro | 69 |
| 1992 | Londrina, PR | 117 | 23 | 19,7 | Musculatura | 70 |
| 1992 | Londrina, PR | 36 | 8 | 22,2 | Cérebro | 70 |
| 2004 | Botucatu, SP | 70 | 0 | 0,0 | Embutido* | 71 |
| 2005 | Londrina, PR | 149 | 13 | 8,7 | Embutido* | 72 |
| 2005 | São Paulo | 28 | 7 | 25,0 | Coração, cérebro, língua | 55 |
| 2006 | Campos dos Goytacazes, RJ | 12 | 6 | 50,0 | Cérebro | 73 |

* Embutidos são produtos fabricados a partir de diversos tecidos de suínos

A biologia molecular na toxoplasmose em suínos apresenta muitas utilidades, tanto na pesquisa, seja em estudos experimentais ou observacionais,^{10,71,75} bem como no diagnóstico em suínos domésticos e javalis⁷⁶. Tal ferramenta tem sido muito utilizada em estudos transversais, acompanhamento de tratamento e de vacinas, epidemiologia molecular, evolução populacional e diagnóstico clínico.^{77,78,79,80} Várias técnicas de PCR têm sido desenvolvidas para o diagnóstico de toxoplasmose, utilizando diversos tipos de amostras clínicas⁸¹ e várias técnicas moleculares como nested-PCR, multiplex-PCR, polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição (RFLP-PCR), real time-PCR, análise de microsatélites e sequenciamento, entre outras.^{82,83,84}

T. gondii possui uma estrutura populacional altamente clonal,⁸⁵ que consiste predominantemente de três linhagens, designadas I, II e III, indicando que sua propagação na natureza ocorre principalmente pela replicação assexuada ou por cruzamentos uniparenterais. A propagação do parasita parece ocorrer primariamente pela reprodução clonal, com recombinação sexual entre as diferentes cepas do parasita ocorrendo não frequentemente, somente nas populações naturais.^{86,87} As variantes do parasita podem estar melhor adaptadas a diferentes hospedeiros intermediários. Num exemplo hipotético, cepas que são abortivas para animais de produção, como ovinos e suínos, poderiam provocar doença ocular severa no ser humano. Desta maneira, torna-se necessária a análise de um maior número de amostras do parasito, originárias de múltiplas fontes de infecção (amostras de tecido colhidas em abatedouros, amostras de tecidos de fetos abortados, amostras de solo, água e verduras contaminadas), para se avaliar as possíveis associações entre genótipos e doença no homem e nos animais.⁸⁸

Atualmente várias técnicas são utilizadas para o estudo e diagnóstico da população clonal de *T. gondii*, assim como os mecanismos de ocorrência da infecção por epidemiologia molecular. Muitas vezes um teste diagnóstico não é suficiente, sendo necessária a associação entre duas ou mais técnicas diagnósticas.^{77,89,90}

Até 2002, muitos estudos baseavam-se na amplificação de genes com poucas cópias no genoma de *T. gondii*. Um dos mais utilizados era o gene SAG1, com apenas uma cópia, seguido pelo gene B1 com 35 cópias,⁸² DNA ribossomal com 110 cópias e, posteriormente, o 18S DNA ribossomal com 200 cópias.⁸¹ Atualmente, muitos estudos utilizam o gene repetitivo de 529 pares de base (pb),⁹¹ que apresenta de 200 a 300 cópias no genoma do parasito, além de ser altamente específico do ponto de vista analítico.

Em animais de abatedouros, as técnicas moleculares também podem ser utilizadas para pesquisa em produtos cárneos⁷⁶ e análise do risco da infecção humana. Tsutsui et al.⁹² comprovaram isto detectando gene B1 em 22,5% amostras de carne positivas, inferior à detecção pelo bioensaio (67,5%). Neste caso, a PCR não permitiu expressar o verdadeiro risco de infecção do consumidor. Resultados similares foram obtidos por Garcia et al.⁹³ em suínos experimentalmente infectados, detectando o gene repetitivo de 529pb em 16,6%, comparado a 55,1% pelo bioensaio. Assim, salienta-se que mesmo utilizando-se regiões com muitas repetições, a combinação de técnicas muitas vezes é o mais eficaz para a detecção de genótipos recombinantes, como obtido por Yai et al.⁹⁴ e Brandão et al.,⁵⁶ com a utilização da nested-PCR. Com isso, não somente a identificação do DNA do parasito é necessária, mas também é preciso saber em que região do genoma trabalhar, aumentando-se a sensibilidade analítica do teste e da genotipagem.

A possibilidade de que o genótipo do parasita tenha influência sobre a severidade da doença no homem tem suporte nas diferenças de virulência das cepas em modelos experimentais animais, em trabalhos realizados nos EUA e Europa. As cepas do tipo II e III levam à infecção crônica e produção de cistos teciduais em camundongos, enquanto as cepas do tipo I são extremamente virulentas para camundongos, causando níveis significativos de parasitemia, que pode aumentar o risco de transmissão transplacentária ou severidade de infecção nos fetos em desenvolvimento.⁸⁵

Atualmente existem vários protocolos de genotipagem envolvendo análise de microsátélites localizados em regiões muito próximas no DNA: TUB2, W35, TgM-A, B18 e B17 e M33;^{76,84} e técnicas de amplificação, reamplificação e cortes enzimáticos.^{77,83} O último protocolo tem sido mais frequentemente utilizado para genotipar amostras isoladas no mundo todo utilizando 12 marcadores genotípicos (SAG1, 5'-3'SAG2, aSAG2, SAG3, BTUb, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico, CS3). Esta aplicação permitiu a identificação de diferentes genótipos do parasito, muitos deles virulentos em camundongos. Assim, uma nova associação entre mutações adaptativas do parasito ao ambiente e seus hospedeiros permitiu caracterizar mais especificamente o perfil genotípico da população clonal de *T. gondii* em todo o mundo.

Referente à genotipagem no *locus* SAG2, vários estudos apresentam a mesma limitação, seja na detecção em produtos cárneos⁹⁵ de bovinos, suínos e frangos (detectando-se os tipos I, II e III), em linguiça suína⁹⁶ (detectando o tipo I em 73,68% amostras e o tipo III 26,32%), como também em suínos domésticos.^{55,97}

A análise das sequências polimórficas permite a determinação da cepa.⁸⁸ A maioria dos estudos de genotipagem de *T. gondii* é baseada na análise da RFLP-PCR do gene SAG2, porém este apresenta problemas técnicos, tais como a amplificação incompleta do gene SAG2⁹⁸ ou a digestão incompleta do DNA pelas enzimas de restrição.⁸⁸ Outros trabalhos utilizam até mesmo outras regiões, como o gene GRA6, onde também ocorre o mesmo problema,⁹⁷ limitando a reprodutibilidade. Há limitações na genotipagem de cepas baseada em somente um ou dois *loci*,^{88,99} uma vez que exclui a possibilidade de identificação de genótipos recombinantes.

Belfort-Neto et al¹⁰⁰ mencionam a presença no Brasil de genótipos atípicos, recombinantes, detectados por meio da RFLP-PCR de três marcadores genéticos. Assim, confirma-se que quanto mais marcadores são utilizados, uma análise mais complexa do genótipo pode ser determinada, e com mais critérios, permitindo-se a detecção de possíveis mutações no genoma do

parasito e a presença de genótipos recombinantes. Estes dados são comprovados por Su et al,⁸³ Pena et al⁷⁷ e Da Silva et al.⁷⁸ Mesmo com a utilização da nested-PCR, a genotipagem no *locus* SAG2 é ineficiente na detecção de genótipos recombinantes, como observado por Brandão et al.⁵⁶

A genotipagem em vários *loci* é necessária para revelar genótipos recombinantes e alelos atípicos, mais frequentemente encontrados em isolamentos colhidos em áreas remotas ou ambiente selvagem, avaliar a diversidade genética da população de *T. gondii*, encontrar os fatores genéticos que podem influenciar a virulência, entender um eventual mecanismo de seleção de genótipos de acordo com a espécie hospedeira e tentar encontrar relações entre o genótipo e a doença humana.⁷⁹ Os genótipos recombinantes, ou genótipos com alelos atípicos, representam somente 5 a 10% na maior parte das coleções de isolamentos,⁸⁵ mas eles são mais frequentes entre as amostras de isolamentos de espécies hospedeiras exóticas, ou de áreas geograficamente remotas, ou de pacientes com apresentação clínica incomum. Além disso, as cepas recombinantes e cepas atípicas são resultados de pressões seletivas sobre a mais antiga cepa ancestral (tipo III), com forte influência sobre a virulência.⁸⁰ A tipificação genética baseada em um ou dois *loci* é muito limitada na habilidade de detectar cepas recombinantes e cepas atípicas, caracterizadas por alelos incomuns em outros *loci*. O estudo de Gallego et al.¹⁰¹ foi um exemplo, detectando 66% de amostras infectadas, porém não permitindo a detecção de genótipos recombinantes na Colômbia. Sabe-se que a América do Sul possui alta ocorrência de genótipos recombinantes de *T. gondii*. Deste modo, estudos baseados na genotipagem somente do *locus* SAG2 devem ser reconsiderados.^{79,83}

Na América do Norte, certa variabilidade genotípica pode ser identificada. Dubey et al.¹⁰² e Velmurugan et al.¹⁰³ detectaram nove genótipos de 182 isolamentos de *T. gondii* a partir de amostras de suínos domésticos destinados ao consumo humano, sendo que 52% foram tipo II, 27% tipo III e os demais possuíam genótipos recombinantes entre os alelos I, II e III em diferentes *loci*. Além disso, oito genótipos já haviam sido identificados em diferentes espécies animais e regiões geográficas. Há ainda a possibilidade de combinação da análise de microsátélites com RFLP-PCR.⁷⁶

O estudo conduzido por Ferreira et al¹⁰⁴ permitiu pela RFLP-PCR em oito *loci*, a constatação que as 20 cepas de *T. gondii*, isoladas de humanos e animais no Brasil, tinham genótipos recombinantes, com alelos típicos dos tipos I, II e III, explicado por uma formação de recombinantes a partir do cruzamento entre membros de linhagens clonais e podendo ser

responsáveis pela heterogeneidade observada na virulência das cepas de *T. gondii*. Este foi o primeiro relato de cepas recombinantes de *T. gondii* no Brasil, em hospedeiros diferentes. Enquanto isso, Zhou et al.⁷⁵ realizaram trabalho semelhante na China, identificando dois suínos com tipo I e três com tipos recombinantes, dentre outras amostras animais também genotipadas. Vários estudos têm ilustrado a alta frequência de cepas tipo I e III, e a ausência de cepas tipo II,^{89,105} contudo, nesses estudos, a análise em somente um ou dois *loci* foi incapaz de identificar as cepas brasileiras como híbridos.

Su et al⁸³ verificaram pela RFLP-PCR em nove *loci* que os isolamentos de *T. gondii* de diferentes fontes podem ser claramente distinguidos dos tipos atípicos e revelar a diversidade genética dos parasitas, porém com a limitação de não ser capaz de distinguir isolamentos relacionados dentro de uma linhagem clonal. Cavalcante et al,¹⁰⁶ estudando seis *loci* gênicos do *T. gondii* (SAG2, SAG3, GRA6, L363, cS10-A6, cB21-4) em cabras, obtiveram dois isolamentos de 5,9% de animais soropositivos, no estado do Ceará, onde os genótipos eram recombinantes, diferentes dos tipos I, II e III originalmente isolados no Velho Mundo. Diversos autores comprovam uma alta diversidade genética do parasita na América do Sul, comparando-se aos genótipos I, II e III primeiramente isolados de amostras na Europa e América do Norte. O parasita foi isolado de diversas espécies animais como cabras no Ceará, Brasil, cães na Colômbia¹⁰⁷, gatos na Colômbia¹⁰⁸ e frangos na Nicarágua¹⁰⁹ e no Brasil.^{77,78,110} Nos países asiáticos têm-se uma diversidade genética limitada em contraste com a América do Sul,^{90,106,107,110,111} visto que em análise baseada em 11 marcadores genéticos, isolaram-se oito amostras provenientes de 21 amostras soropositivas, de cães, no Vietnã, com a detecção de apenas dois genótipos, sendo os mesmos genótipos encontrados na China,⁹⁰ e ambos tinham sua origem na Colômbia.¹⁰⁷ Enquanto isso, Da Silva et al⁷⁸ identificaram cinco novos genótipos em ovinos destinados ao abate, além da identificação e isolamento pela primeira vez do genótipo II no Brasil.

A divergência genômica entre as linhagens é de cerca de 1%.¹¹² Desse modo, o encontro de infecção mista em hospedeiros intermediários leva a uma mais frequente diversidade genética entre diferentes linhagens do parasita à medida que os hospedeiros intermediários são presas dos hospedeiros definitivos, o que facilita a evolução do *T. gondii*.^{77,80,109,113}

CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos, a toxoplasmose em suínos consiste em um problema presente nos dias de

hoje tanto na criação como na produção de alimentos de suínos, gerando grandes problemas econômicos e de saúde pública. Apresenta ampla prevalência no mundo, gerando problemas reprodutivos e alta variabilidade genotípica, principalmente na América do Sul.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Paranaense, à Fundação Araucária e à FAPESP pelo suporte a projetos de pesquisa relacionados ao tema desta revisão.

REFERÊNCIAS

1. Tenter AM. Current knowledge on the epidemiology of infections with *Toxoplasma*. Tokai J Exp Clin Med. 1999;23:291. [1 p.]. [acesso 2010 jan 6]. Disponível em: <http://mj.med.u-tokai.ac.jp/pdf/230631.pdf>
2. Frenkel JK. Toxoplasmosis in human beings. J Am Vet Med Assoc. 1990;196:240-8.
3. Dubey JP. Toxoplasmosis. J Am Vet Assoc. 1994;205:1593-8.
4. Schindwein MM, Kassouf AL. Análise da influência de alguns fatores socioeconômicos e demográficos no consumo domiciliar de carnes no Brasil. In: 44º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural; 2006 jul 23-27. Fortaleza; 2006. p.1-16. [acesso jan 6]. Disponível em: <http://www.sober.org.br/palestra/5/483.pdf> 2006;44:549-72.
5. Faria IG, Ferreira JM, Garcia SK. Mercado consumidor de carne suína e derivados em Belo Horizonte. Arq Bras Med Vet Zootec. 2006;58:251-6.
6. Farrel RL, Docton FL, Chamberlain DM, et al. Toxoplasmosis. I. *Toxoplasma* isolated from swine. Am J Vet Res. 1952;13:181-5.
7. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30:1217-20.
8. Silva IML. Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. Arq Esc Super Vet Univ Rural Est Minas Gerais. 1959;12:425-8.
9. Bezerra RA, Paranhos EB, Del'Arco AE, et al. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 2009;18:78-80.
10. Moura AB, Osaki SC, Zulpo DL, et al. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 2007;16:54-6.
11. Bonna ICF, Figueiredo FB, Costa T, et al. Estudo soropidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. Rev Bras Cienc Vet. 2006;13:186-9.
12. Araújo FAP, Souza WJS. Antibody response against *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa) measured by indirect fluorescent antibody technique in pigs naturally infected in the area of great Erechim, RS, Brazil. Arq Fac Vet UFRGS. 1997;25:75-83.
13. Brito AF, Souza LC, Silva AV, et al. Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97:31-5.

14. Da Silva AV, Boareto H, Isbrecht FB, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da região oeste do Paraná, Brasil. *Vet Zootec*. 2008; 15:263-6.
15. Mattei RJ, Rosa RC, Merlini LS, et al. Comparação da frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos provenientes de propriedades e em um abatedouro no noroeste do Paraná. *Anais do 7º Encontro de Iniciação Científica e 7º Fórum de Pesquisa da Universidade Paranaense*; 2008 Out 23-24; Umuarama, Brasil. Umuarama: Coordenadoria de Editoração e Divulgação Científica, 2008. p.228.
16. Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. *Ciênc Rural*. 1999;29:91-7.
17. Araújo FAP, Souza WJS. Antibody response against *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa) measured by indirect fluorescent antibody technique in pigs naturally infected in the area of great Erechim, RS, Brazil. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1997;25:75-83.
18. Carletti RT, Freire RI, Shimada MD, et al. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. *Semin Cien Agrar*. 2005;26:563-8.
19. Tsutsui VS, Navarro IT, Freire RL, et al. Soroepidemiologia e fatores associados a transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. *Arch Vet Sci (Curitiba)*. 2003;8:27-34.
20. Pereira IC. Soroprevalência de anticorpo para *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS [tese]. Pelotas (RS): Universidade Federal de Pelotas; 2005.
21. Jamra LF, Martins MC, Vieira MPL. Ação do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1991;33:359-63.
22. Navarro IT, Vidotto O, Giraldi N, et al. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em língua de suínos. *Bol Of Sanit Panam*. 1992;112:138-43.
23. Vidotto O, Costa AJ, Balarin MRS, et al. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. I. Observações clínicas e hematológicas. *Arq Bras Med Vet Zoot*. 1987;39:623-39.
24. Vidotto O, Costa AJ. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. II. Parasitemia e resposta imunitária humoral. *Arq Bras Med Vet Zoot*. 1987;39:783-94.
25. Vidotto O, Costa AJ. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. III. Alterações patológicas e reisolamento. *Arq Bras Med Vet Zoot*. 1987;39:795-814.
26. Giraldi N, Freire RL, Navarro IT, et al. Estudo da toxoplasmose congênita natural em granjas de suínos em Londrina, PR. *Arq Bras Med Vet Zoot*. 1996;48:83-90.
27. Silva ACB, Mitsuka R, Navarro IT, et al. Avaliação pela imunofluorescência indireta dos aspectos imunogênicos e antigênicos de diferentes amostras de *Toxoplasma gondii* inoculadas em suínos. *Rev Bras Parasitol Vet*. 1994;3:17-22.
28. Freire RL, Navarro IT, Bracarense APFRL, et al. Vaccination of pigs with *Toxoplasma gondii* antigens incorporated in immunostimulating complexes (iscoms). *Arq Bras Med Vet Zoot*. 2003;55:388-96.
29. Nishi SM. Efeito da infecção pelo *Toxoplasma gondii* na expressão de genes associados à resposta immune em tecidos de suínos [tese]. São Paulo(SP): Universidade de São Paulo; 2004.
30. Bugni FM, Cunha IAL, Araújo MA, et al. Ação da β -glucana em suínos infectados experimentalmente com taquizoítos do *Toxoplasma gondii*. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2008;17:249-59.
31. Moura AB, Jordão Filho S, Di Mauro DC, et al. Avaliação dos parâmetros seminais de cachacos (*Sus scrofa*) experimentalmente infectados com *Toxoplasma gondii*. *Semina: Cienc Agr*. 2004;25:107-16.
32. Moura AB, Costa AJ, Jordão Filho S, et al. *Toxoplasma gondii* in semen of experimentally infected swine. *Pesq Vet Bras*. 2007;27:430-4.
33. Silva PC. Análise morfológica da parede e dinâmica do epitélio do jejuno de suínos com toxoplasmose [dissertação]. Umuarama (PR): Universidade Paranaense; 2009.
34. Odorizzi L. Hipertrofia de neurônios mientéricos nitrérgicos de suínos com toxoplasmose [dissertação]. Umuarama (PR): Universidade Paranaense; 2009.
35. Sogorb F, Jamra LF, Guimarães EC, et al. Toxoplasmose espontânea em animais domésticos e silvestres, em São Paulo. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1972;14:314-20.
36. Amaral VDO, Santos SM, Rebouças MM. Estudos preliminares sobre a prevalência de anticorpos anti-toxoplasma, por hemaglutinação, em soros de suínos provenientes dos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul, Brasil. *Biológico*. 1975;41:105-7.
37. Schenk MAM, Lima JD, Viana FC. Frequência da toxoplasmose em suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arq Esc Vet Univ Fed Minas Gerais*. 1976;28:261-6.
38. Correa FMA, Salata E, Oliveira MR. *Toxoplasma gondii*: diagnóstico, pela prova de imunofluorescência indireta em suínos no estado de São Paulo, Brasil. *Arq Inst Biol São Paulo*. 1978;45:209-12.
39. Ishizuka MM. Avaliação da frequência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta em suínos de matadouro do município de São Paulo. *Rev Fac Med Vet Zootec USP*. 1978;15:151-4.
40. Santos SM, Amaral V, Rebouças MM. Prevalência de anticorpos antitoxoplasma, por hemaglutinação indireta, em soros de suínos provenientes de diferentes municípios do estado de São Paulo. *Biológico*. 1978;44:149-53.
41. Vasconcelos OT, Costa AJ, Ávila FA. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos. *Científica*. 1979;7:83-7.
42. Nishikawa H, Raiser DSS, Silva SS, et al. Prevalência de anticorpos antitoxoplásmicos em animais domésticos. *Anais do Encontro de Pesquisas Veterinárias*; 1984 Nov; Londrina, Brasil. Londrina: Curso de Medicina Veterinária, 2008, p.62.
43. D'Angelino JL, Ishizuka MM. Toxoplasmose suína: Avaliação da prevalência de infecção toxoplásmica em rebanhos suínos pela prova de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. *Bol Of Sanit Panam*. 1986;100:634-47.
44. Wentz I, Sobestiansky J, Chaplin E. Prevalência de anticorpos para toxoplasmose em soros de suínos de pedigree em Santa Catarina. *Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves*; 1988.
45. Vidotto O, Navarro IT, Giraldi N, et al. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina – PR. *Semina: Cienc Agr*. 1990;11:53-9.
46. Guimarães AM, Ribeiro MFB, Lima JD, et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1992;44:69-71.
47. Grünspan ED, Moreira WS, Edelweiss MIA, et al. Imunoglobulinas antitoxoplásmicas e retinocoroidite em suínos. *Cienc Rural*. 1995;25:261-4.

48. Araújo FAP, Santos JR, Souza WJS. Detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected pigs by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the area of great Erechim, RS, Brazil. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1998;26:57-65.
49. Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. *Cienc Rural*. 1999;29:91-7.
50. Matos MPC, Sobestiansky J, Gambarini ML. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia. *Hora Veterinária*. 1995;19(109):9-11.
51. Suárez-Aranda F, Galisteo JR AJ, Hiramoto RM, et al. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet Parasitol*. 2000;91:23-32.
52. Silva RAMS, Bonassi C, Dalla Costa AO, et al. Serosurvey on pig toxoplasmosis in animals kept in different management systems in Santa Catarina and Rio Grande do Sul States, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000;95:147.
53. Fialho CG, Araújo FAP. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil. *Cienc Rural*. 2003;33:893-7.
54. Caporali EHG, Silva AV, Mendonça AO, et al. Comparação de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco, Brasil. *Arq Ciênc Vet Zool UNIPAR*. 2005;8:19-24.
55. Dos Santos CB, Carvalho AC, Ragozo AM, et al. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. *Vet Parasitol*. 2005;131:207-11.
56. Brandão GP, Ferreira AM, Melo MN, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. *Parasite*. 2006;13:143-9.
57. Bonna ICF, Figueiredo FB, Costa T, et al. Estudo soropidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. *Rev Bras Cienc Vet*. 2006;13:186-9.
58. Cavalcante GT, Aguiar DM, Chiebao D, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural western Amazon, Brazil. *J Parasitol*. 2006;92:863-4.
59. Lima JN, Felício PS, Franco PM. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) em suínos abatidos em matadouros no estado de São Paulo, SP, Brasil. *O Biológico*. 2007;67:25-51.
60. Oliveira KR, Domingues PF, Langoni H, et al. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos criados sob condições rústicas na microrregião de Registro – SP, pelo método de aglutinação direta (MAD). *Vet Zootec*. 2007;14:169-75.
61. Pezerico GP, Pezerico SB, Silva RC, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira* spp. Em suínos abatidos em três abatedouros dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. *Arq Inst Biol São Paulo*. 2007;74:267-70.
62. Millar PR, Daguer H, Vicente RT, et al. *Toxoplasma gondii*: estudo soropidemiológico de suínos da região sudoeste do estado do Paraná. *Pesq Vet Bras*. 2008;28:15-8.
63. Fornazari F, Langoni H, Silva RC, et al. *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Brazil. *Vet Parasitol*. 2009;164:333-4.
64. Gennari SM, Azevedo SS, Pena HFJ, et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. In: 22nd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 2009 Sep 6-10; Calgary, Canada. Calgary: WAAVP, 2009.
65. Dubey JP. Toxoplasmosis in pigs – The last 20 years. *Vet Parasitol*. 2009;164:89-103.
66. Piassa FR, Rosa RC, Mattei RJ, et al. Ausência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos de granjas de alto padrão sanitário em Toledo, PR. In: Sant’Ana DMG, Benato CV, editoras. Anais do 7º Encontro de Iniciação Científica, 7º Fórum de Pesquisa da Universidade Paranaense; 2008 Out 23-24; Umuarama, Brasil. Umuarama: Coordenadoria de Editoração e Divulgação Científica, 2008. p. 649-9.
67. Ishizuka MM, D’Angelino JL, Souza JMP. Toxoplasmose suína. 2. Estudo comparativo das provas de imunofluorescência indireta e hemaglutinação, para avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros suínos. *Bol Of Sanit Panamer*. 1986;100:524-30.
68. Minho AP, Freire RL, Vidotto O, et al. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in experimentally infected pigs. *Pesq Vet Bras*. 2004;24:199-202.
69. Dubey JP, Thulliez P, Weigel RM, et al. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am J Vet Res*. 1995;56:1030-6.
70. Dubey JP. Validation of the specificity of the modified agglutination test for toxoplasmosis in pigs. *Vet Parasitol*. 1997;71:307-10.
71. Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP, et al. Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Vet Parasitol*. 2006;141:9-17.
72. Almeida MAB, Alencar-Junior LR, Carmo GMI, et al. Surto intrafamiliar de toxoplasmose, Santa Vitória do Palmar – RS, julho de 2005. *Bol Eletron Epidem*. 2006;6:1-7.
73. Mullis K, Faloona F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*. 1987;155:335-50.
74. Kompalic-Cristo A, Nogueira SA, Guedes AL, et al. Lack of technical specificity in the molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2004;98:92-5.
75. Zhou P, Zhang H, Lin R-Q, et al. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from China. *Parasitol Int*. 2009;58:193-5.
76. Richomme C, Aubert D, Gilot-Fromont E, et al. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Vet Parasitol*. 2009;164:296-300.
77. Pena HFJ, Gennari SM, Dubey JP, et al. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *Int J Parasitol*. 2008;38:561-9.
78. Da Silva RC, Su C, Langoni H. First identification of clonal type II isolates of *Toxoplasma gondii* from Brazil. Proceedings of the 10th International Congress on Toxoplasmosis; 2009 June 19-23; Kerkrade, The Netherlands. Intervet Shering Plough; 2009. p.152.
79. Dardé M-L. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. *Ann Ist Super Sanità*. 2004;40:57-63.
80. Khan A, Taylor S, Ajioka JW, et al. Selection at a single locus leads to widespread expansion of *Toxoplasma gondii* lineages that are virulent in mice. *PLOS Genet*. 2009;5(3):1000404. [acesso 2010 jan 28]. Disponível em: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1000404>

81. Kijlstra A, Meerburg B, Cornelissen J, et al. The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. *Vet Parasitol.* 2008;156:183-90.
82. Lin M, Chen T, Kuo TT, et al. Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 2000;38:4121-5.
83. Su C, Zhang X, Dubey JP. Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites. *Int J Parasitol.* 2006;36:841-8.
84. Ajzenberg D, Dumètre A, Dardé M-L. Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 2005;43:1940-3.
85. Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis.* 1995;172:1561-6.
86. Mondragon R, Howe DK, Dubey JP, et al. Genotypic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs. *J Parasitol.* 1998;84:639-41.
87. Switaj K, Master A, Skrzypczak M, et al. Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11:170-6.
88. Lehmann T, Blackston CR, Parmley SF, et al. Strain typing of *Toxoplasma gondii*: comparison of antigen-coding and housekeeping genes. *J Parasitol.* 2000;86:960-71.
89. Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. *Vet Parasitol.* 2003;117:229-34.
90. Dubey JP, Huong LTT, Sundar N, et al. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in dogs from Vietnam suggests their South American origin. *Vet Parasitol.* 2007;146:347-51.
91. Homan WL, Vercammen M, De Braekeleer J, et al. Identification of a 200- to 300- fold repetitive 529bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *Int J Parasitol.* 2000;30:69-75.
92. Tsutsui VS, Freire RL, Garcia JL, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in commercial cuts of pork from experimentally infected pigs. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007;51:30-4.
93. Garcia JL, Gennari SM, Machado RZ, et al. *Toxoplasma gondii*: detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Exp Parasitol.* 2006;113:267-71.
94. Yai LEO, Vianna MCB, Soares RM, et al. Evaluation of experimental *Toxoplasma gondii* (Nicolle and Manceaux, 1909) infection in pigs by bioassay in mice and polymerase chain reaction. *Bras J Vet Res Anim Sci.* 2003;40:227-34.
95. Dubey JP, Hill DE, Jones JL, et al. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. *J Parasitol.* 2005;91:1082-93.
96. Silva AV, Mendonça AO, Pezerico SB, et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains detected in pork sausage. *Parasitol Latinoam.* 2005;60:65-8.
97. Zakimi S, Kyan H, Oshiro M, et al. Genetic characterization of GRA6 genes from *Toxoplasma gondii* from pigs in Okinawa, Japan. *J Vet Med Sci.* 2006;68:1105-7.
98. Fuentes I, Rubio JM, Ramirez C, et al. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2001;39:1566-70.
99. Ajzenberg D, Bañuls AL, Tibayrenc M, et al. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups. *Int J Parasitol.* 2002;32:27-38.
100. Belfort-Neto R, Nussenblatt V, Rizzo L, et al. High prevalence of unusual genotypes of *Toxoplasma gondii* infection in pork meat samples from Erechim, Southern Brazil. *An Acad Bras Ci.* 2007;79:111-4.
101. Gallego C, Saavedra-Matiz C, Gómez-Marín JE. Direct genotyping of animal and human isolates of *Toxoplasma gondii* from Colombia (South America). *Acta Trop.* 2006;97:161-7.
102. Dubey JP, Hill DE, Sundar N, et al. Endemic toxoplasmosis in pigs on a farm in Maryland: isolation and genetic characterization of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 2008;94:36-41.
103. Velmurugan GV, Su C, Dubey JP. Isolate designation and characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs in the United States. *J Parasitol.* 2009;95:95-9.
104. Ferreira AM, Vitor RWA, Gazzinelli RT, et al. Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Infect Genet Evol.* 2006;6:22-31.
105. Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, et al. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int J Parasitol.* 2002;32:99-105.
106. Cavalcante ACR, Ferreira AM, Melo MN, et al. Virulence and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolated from goats in Ceará, Brazil. *Small Rum Res.* 2007;69:79-82.
107. Dubey JP, Cortés-Vecino JA, Vargas-Duarte JJ, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Vet Parasitol.* 2007;145:45-50.
108. Dubey JP, Su C, Cortés JA, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Vet Parasitol.* 2006;141:42-7.
109. Dubey JP, Sundar N, Pineda N, et al. Biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Nicaragua, Central America. *Vet Parasitol.* 2006;142:47-53.
110. Dubey JP, Sundar N, Gennari SM, et al. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. *Vet Parasitol.* 2007;143:182-8.
111. Dubey JP, Zhu XQ, Sundar N, et al. Genetic and biologic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates of cats from China. *Vet Parasitol.* 2007;145:352-6.
112. Ajioka JW, Fitzpatrick JM, Reitter CP. *Toxoplasma gondii* genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. *Exp Rev Mol Med.* 2001;3:1-19.
113. Dardé M-L. *Toxoplasma gondii*, “new” genotypes and virulence. *Parasite.* 2008;15:366-71.