

## Toxoplasmose experimental em coelhas gestantes

### Experimental toxoplasmosis in pregnant rabbits

Jair Rodini Engracia Filho<sup>1,2,3</sup>; Julieta Rodini Engrácia de Moraes<sup>1</sup>; Flávio Ruas de Moraes<sup>1</sup>; Daniela Myasaka<sup>1,2</sup>; Karina Castagnolli<sup>1,2</sup>; Alvimar José da Costa<sup>1</sup>

**Resumo:** Neste ensaio foram comparados aspectos clínicos, obstétricos, imunológicos e patológicos entre coelhas gestantes inoculadas com oocistos de *Toxoplasma gondii* e coelhas gestantes não inoculadas. Os resultados obtidos demonstram ser a coelha gestante altamente sensível à infecção toxoplásmica. Aborto e óbito foram observados em 100% das coelhas infectadas, antes do término da gestação. Os aumentos máximos de temperatura corporal foram observados entre o quarto e o nono dia pós-inoculação (DPI). Alterações hematológicas também foram observadas. Devido ao caráter hiperagudo decorrente da infecção toxoplásmica, detectou-se resposta imune humoral nas coelhas infectadas somente no 7º DPI. Os exames anátomo-histopatológicos demonstraram, principalmente, alterações hepáticas, renais e pulmonares. Com base nos dados obtidos no estudo, comprovou-se que coelhas gestantes são extremamente sensíveis a oocistos de *T. gondii*, apresentando severas alterações em diversos órgãos, assim como aborto e óbito prematuro.

**Palavras-chave:** *Toxoplasma gondii*, coelhas gestantes, aborto.

**Abstract:** The clinical, hematological, obstetrical, immunological and pathological aspects of the experimental toxoplasmosis were investigated in pregnant rabbits orally inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. Pregnant rabbits showed to be highly sensible to the toxoplasmic infection. Abortion and death occurred in 100% of the inoculated rabbits. Fever peak was observed between 4º and 9º day pos-infection. Blood parameter showed alterations. Because the hyperacute character presented by the toxoplasmic infection, the humoral immune response was weak. The microscopic and macroscopic exams demonstrated, mainly, alterations in liver, kidney and lungs. These results suggested that pregnant rabbits, orally infected with oocysts of *T. gondii* are extremely susceptible to this parasite, showing severe alterations in several organs, as well as premature abortion and death.

**Key words:** *Toxoplasma gondii*, pregnant rabbits, abortion.

## 1 Introdução

A toxoplasmose congênita constitui-se numa das formas de maior importância da doença tanto em humanos quanto em animais domésticos, e que se manifesta com maior frequência durante os dois primeiros trimestres da gestação. Por outro lado, quando adquirida no terceiro trimestre, ocorrem infecções subclínicas no feto ou mesmo ausência de infecção (DESMONTS e COUVREUR, 1974).

Em humanos, quando a primoinfecção ocorre durante a gestação, aproximadamente 40% dos fetos se infectam. Dentre estes, uma porcentagem de 15% morrem ou apresentam sintomatologia severa ao nascerem, 19% demonstram sinais clínicos moderados e o restante apresenta infecção subclínica (VITOR, 1994).

A transmissão congênita do *T. gondii* também foi observada em animais utilizados para consumo humano. O *T. gondii* é descrito como parasito habitual de ovinos, caprinos, suínos e bovinos em várias partes do mundo (VITOR e PINTO, 1991; WARNEKULASURIYA *et al.*, 1998; ESTEBAN *et al.*, 1999). A importância dessa

enfermidade nos animais de interesse zootécnico é evidenciada quando são consideradas as perdas econômicas decorrentes, principalmente, de abortos, natimortos e crias debilitadas, devido à transmissão congênita do parasito (LINKLATER e DYSON, 1979; McSPORAN *et al.*, 1985).

Apesar da infecção por *T. gondii* ser relativamente freqüente em coelhos domésticos, em muitos países, a manifestação clínica da toxoplasmose é aparentemente rara nesta espécie (DUBEY *et al.*, 1992).

A epidemiologia da toxoplasmose está descrita em lebres selvagens e em coelhos domésticos na Escandinávia e nos EUA (DUBEY *et al.*, 1992), em coelhos selvagens na Alemanha (MANGOLD *et al.*, 1999) e República Tcheca (LITERAK e RYCHLIK, 1999). O coelho constitui-se em reservatório de *T. gondii*, cuja infecção é mantida graças à transmissão intra-uterina do protozoário (HEJLICEK e LITERAK, 1995). Svoboda e Svobodova (1987) ressaltaram a importância da carne de fígado de coelhos infectados na transmissão da toxoplasmose para cães e gatos.

<sup>1</sup> CPPAR-Centro de Pesquisas em Sanidade Animal, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal.

<sup>2</sup> Aluno de pós-graduação, FCAV/UNESP, Jaboticabal.

<sup>3</sup> Centro Universitário Barão de Mauá.

O coelho é utilizado no estudo da toxoplasmose ocular (GARWEG *et al.* 1998), do sistema nervoso central (DZBENSKI *et al.*, 1998), cutânea (MORETTI *et al.*, 1995), entre outros. Estudos bioquímicos também foram realizados utilizando-se o coelho como modelo experimental (SHALABY *et al.*, 1998).

Neste trabalho coelhas gestantes foram inoculadas com oocistos de *T. gondii* e avaliadas quanto às suas manifestações clínicas, hematológicas, imunitárias e presença de lesões decorrentes da infecção.

## 2.1 Inoculação dos animais

Nove coelhas gestantes foram infectadas com oocistos de *T. gondii* e três coelhas gestantes foram mantidas como controle (não infectado). O delineamento experimental ficou estabelecido como na Tabela 1.

Os oocistos de *T. gondii* foram administrados às coelhas, por via esofagiana, utilizando-se seringa de 5 ml adaptada a uma sonda. Objetivando a remoção dos oocistos eventualmente aderidos à parede da seringa, foram administrados, a seguir, 5 ml de solução fisiológica estéril aos animais.

## 2.2 Avaliação clínica

Após confirmar a prenhez e até o final da gestação, as coelhas foram diariamente examinadas e todas as alterações clínicas e obstétricas anotadas, principalmente o aborto e data de óbito. Durante o período de pré-inoculação, elas não apresentaram anormalidades clínicas ou obstétricas que pudessem ser detectadas pelos exames semiológicos usuais. A avaliação clínica incluiu observações da temperatura retal, frequências respiratória e cardíaca, coloração das mucosas, palpação, grau de hidratação e auscultação cardiorrespiratória.

## 2.3 Hemogramas

Para a análise hematimétrica foram colhidos a cada sete dias, por punção intracardíaca, 2 ml de sangue

de cada animal. Foram avaliados os números de hemácia e leucócito por  $\mu\text{L}$ , taxa de hematócrito, taxa de hemoglobina e contagem diferencial de leucócitos.

## 2.4 Resposta imunitária humoral

Os soros de todas as coelhas foram submetidos à reação de hemaglutinação indireta (HAI). Para o teste de hemaglutinação indireta foi utilizado o kit "Toxocell HAI"<sup>1</sup>. A interpretação dos resultados baseou-se na formação, nos soros positivos, de um "manto" de aspecto translúcido, cobrindo toda a parede do orifício, indicando aglutinação das hemácias frente aos anticorpos. Nos soros dos animais negativos, as células precipitaram escorregando pelas paredes inclinadas do orifício, formando um "botão" no fundo do mesmo. Os soros positivos ou duvidosos foram submetidos ao teste quantitativo, ou seja, foram diluídos em base quatro, a partir de 1/32 até a diluição máxima de 1/1024.

## 2.5 Exames anátomopatológicos

Exames necroscópicos foram efetuados em todas as coelhas após o óbito. Para os exames histopatológicos foram colhidos, de todas as coelhas, fragmentos de pulmão, coração, musculatura esquelética, fígado, baço, encéfalo, rins, intestino, retinas e placenta. Os fragmentos de placenta foram fixados em Bouin e os demais tecidos em formalina tamponada a 10%. Esses fragmentos foram incluídos em parafina, cortados com cinco micrômetros de espessura e corados com Hematoxilina-Eosina (HE).

## 2.6 Reisolamento de *T. gondii* (Bioprova)

Fragmentos dos mesmos órgãos colhidos para exames histopatológicos foram individualmente triturados e submetidos à digestão péptica, conforme técnica adotada por Jacobs e Melton (1957) para reisolamento de *T. gondii*. Assim, foram realizadas duas inoculações intraperitoneais com um mililitro do material e intervalo

**Tabela 1** – Número de animais, fase de gestação e esquema de inoculação de *Toxoplasma gondii* em Coelhas gestantes.

Grupo	Nº de coelhas	Fase gestacional (dias)	<i>T. gondii</i>		
			Forma evolutiva	Quantidade	Via de aplicação
I	9	14	Oocisto	$1,0 \times 10^4$	Esofagiana
II	3	14	Sol. Salina	0,9%	Esofagiana

<sup>1</sup> Toxocell HAI. Biokit, S. A. COD. 30614512. Lot. C-3499

de 12 horas, em três camundongos albinos, os quais foram observados diariamente durante seis semanas.

Aqueles que morreram durante esse período ou que apresentaram aumento de volume abdominal ou qualquer sinal que pudesse sugerir infecção por *T. gondii*, foram examinados para eventual presença do parasito. Ao final da observação, os camundongos foram sacrificados e tiveram amostras de sangue colhidas para a obtenção de soros, nos quais foram pesquisados anticorpos contra *T. gondii* pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), segundo Camargo (1964). Nos cérebros de todos os camundongos inoculados pesquisou-se a presença de cistos de *T. gondii*.

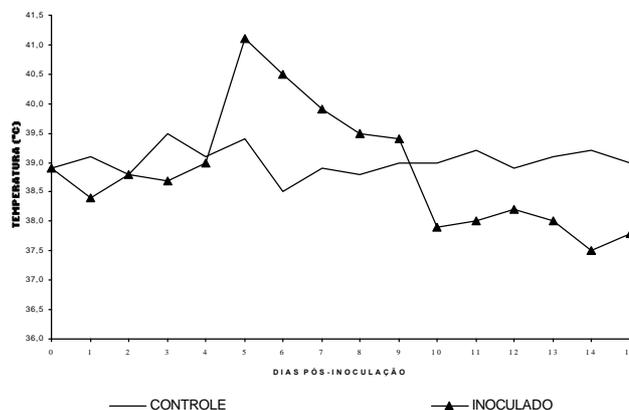
### 3 Resultados

Os animais infectados apresentaram diarreia, palidez de mucosas, anorexia, apatia e estertores pulmonares. Coelhas não infectadas, por sua vez, não demonstraram alterações de importância clínica (Tabela 2). Os registros das temperaturas retais visualizados na Figura 1 demonstram, nos animais infectados (Grupo I), hipertermia entre o quarto e oitavo dia após as inoculações e discreta hipotermia no período posterior, enquanto os animais controle (Grupo II) mantiveram a normotermia durante todo o período experimental.

As médias dos valores obtidos nos hemogramas são mostradas na Tabela 3. Observa-se que houve, em todos os parâmetros, decréscimo nos valores hematimétricos do Grupo I, representativo de quadro anêmico discreto, enquanto o Grupo II manteve seus valores estáveis. O Grupo I apresentou leucocitose no 14º dia pós inoculação (DPI), o que não foi observado nas coelhas do Grupo II. A contagem diferencial de leucócitos não apresentou alteração significativa entre os grupos.

Após confirmação da prenhez, 13 dias após a concepção, nenhuma alteração foi observada à palpa-

ção, excluindo-se algumas coelhas que demonstraram discreta sensibilidade abdominal difusa passageira. O aborto ocorreu em todas as coelhas infectadas, excetuando-se dois casos em que os animais morreram antes do parto. Os abortos ocorreram entre o quinto e o nono DPI. As coelhas do Grupo II não apresentaram qualquer alteração que demonstrasse interferência ambiental ou de manejo durante o período de gestação que chegou a termo no período previsto.



**Figura 1** – Valores médios de temperatura retal (°C) obtidos de coelhas gestantes inoculadas, via oral, com  $1 \times 10^4$  oocistos de *T. gondii* (n=9) e de coelhas gestantes não inoculadas (n=3).

Os dados apresentados na Tabela 4, relativos à titulação de anticorpos anti-*T. gondii*, mostram pequena resposta humoral no Grupo I aos sete DPI, quando um animal apresentou título de 32 e outros três apresentaram título de 64, em um total de nove animais. Já no 14º DPI os dois únicos animais sobreviventes apresentaram títulos sorológicos de 512. As coelhas do grupo controle mantiveram-se negativas para a presença de anticorpos contra *T. gondii* ao longo de todo experimento.

**Tabela 2** – Alterações clínicas em coelhas gestantes inoculadas oralmente com  $1 \times 10^4$  oocistos de *T. gondii* (n=9) ou coelhas gestantes não inoculadas (n=3).

Alterações clínicas mais freqüentes	Freqüência de sinais clínicos nos grupos *	
	Grupos experimentais	
	Inoculado	Controle
Apatia	+++	+
Palidez de mucosas	+++++	+
Hipertermia	+	-
Secreção nasal	++	-
Taquipnéia	++	-
Espirros	++	-
Estertores pulmonares	+++	-
Diarréia	+++++	-
Anorexia	++++	-

\* Avaliação variando de: + = pouco freqüente / +++++ = 100% de freqüência

Todas as coelhas gestantes inoculadas com oocistos de *T. gondii* apresentaram quadros mórbidos superagudos, que evoluíram para o óbito. As mortes ocorreram entre o sexto e o 14º DPI, geralmente precedidas por aborto espontâneo. Os animais pertencentes ao Grupo II foram sacrificados com xilazina e cloreto de potássio através de injeção intracardíaca 10 dias após o parto, para fins de exames anátomo-patológicos.

Os exames anátomo-histopatológicos revelaram alterações macroscópicas no grupo infectado com oocistos de *T. gondii*, principalmente em órgãos vitais

como fígado, coração, baço, rins e pulmão que apresentaram, entre outras alterações, hepatomegalia, cardiomegalia, esplenomegalia, petéquias e enfisema. Os animais do Grupo II não apresentaram quaisquer alterações quando sacrificados, 10 dias após o parto. As alterações macroscópicas encontradas estão expressas na Tabela 5. As alterações microscópicas acompanharam o quadro observado à necropsia e estão descritos na Tabela 6.

A pesquisa de cistos em cérebros de camundongos inoculadas com amostras de órgãos mostrou-se negativa em todos os casos.

**Tabela 3** – Médias dos valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito e leucócitos totais de sangue de coelhas gestantes inoculadas oralmente com  $1 \times 10^4$  oocistos de *T. gondii*. (n=9) e de coelhas gestantes não inoculadas (n=3)

Dias pós-inoculação	Hemácias (n x 10 <sup>6</sup> /μl)		Hemoglobina (g/dl)		Hematócrito (%)		Leucócitos (n /μl)	
	GI*	GII**	GI	GII	GI	GII	GI	GII
0	5.83	5.54	11.11	11.07	36	35	5711	6833
7	4.2	5.77	7.62	9.53	24.6	29	5777	4035
14	3.18	5.94	6.8	10	25.5	32	7250	4075

\* GI : Grupo inoculado

\*\* GII: Grupo controle

**Tabela 4** – Recíprocas dos títulos de anticorpos obtidos pela reação de hemaglutinação indireta (HAI) em soros de coelhas gestantes não inoculadas (n=3) e inoculadas com  $1,0 \times 10^4$  oocistos de *Toxoplasma gondii* (n=9).

Nº da Coelha	Grupo Experimental	Títulos de anticorpos / DPI*		
		0	7	14
1	<b>Infectadas com <i>T. gondii</i></b>	00	00	NR
2		00	00	NR
3		00	00	NR
4		00	00	NR
5		00	64	NR
6		00	64	512
7		00	00	NR
8		00	64	NR
9		00	32	512
10	<b>Controle</b>	00	00	00
11		00	00	00
12		00	00	00

\* DPI: Dias Pós-inoculação de *Toxoplasma gondii*

>32: Recíproca de título positivo para *Toxoplasma gondii*

**Tabela 5** – Frequência de alterações macroscópicas encontradas em exames anatomopatológicos das coelhas pertencentes aos grupos controle e inoculado com  $1 \times 10^4$  oocistos de *T. gondii* (n=9) e não inoculado (n=3).

Órgãos	Alterações macroscópicas mais frequentes	Frequência de alterações*	
		Grupo I**	Grupo II***
Fígado	Palidez	++	-
	Hepatomegalia	++++	-
	Friável	++++	-
Útero	Exsudato mucosanguinolento	+	-
	Exsudato mucopurulento	+++	-
Traquéia	Petéquias hemorrágicas	+++++	-
	Exsudato mucoespumoso	++++	-
Coração	Cardiomegalia	+	-
Baço	Esplenomegalia	+++++	-
Pulmão	Congestão	+++	-
	Enfisema	+++++	-
	Catarro	+++	+
	Petéquias hemorrágicas	+	-
Rins	Áreas esbranquiçadas	+	-
	Petéquias hemorrágicas	+	-

\* Avaliação variando de: + = pouco freqüente / +++++ = 100% de freqüência

\*\* Grupo I: Inoculado

\*\*\* Grupo II: Não inoculado (controle)

#### 4 Discussão

As coelhas gestantes mostraram-se altamente sensíveis à infecção experimental com oocistos de *T. gondii*, o que foi demonstrado pelos abortos e óbitos. Thouvenin *et al.* (1997) demonstraram que camundongos Balb/C gestantes são mais susceptíveis à infecção toxoplásmica quando comparados com fêmeas Balb/C não-gestantes.

Outros estudos demonstram que a coelha não gestante é sensível à doença mas, raramente, chega a óbito. Já foi demonstrado que o coelho mostra-se um bom modelo experimental para o estudo da toxoplasmose (FACHADO *et al.*, 1990; HITT e FILICE, 1992; WATANABE *et al.*, 1993; BLACKWELL *et al.*, 1994; PEIFFER *et al.*, 1994; HUNTER *et al.*, 1995), porém

sem apresentar curso superagudo e a taxa de óbito como no presente estudo.

Os parâmetros avaliados permitem inferir que as alterações observadas não sofreram influência de fatores externos.

Apenas duas coelhas, das nove inoculadas, mantiveram-se vivas até o final do período. Todas as coelhas não inoculadas continuaram vivas. Estas coelhas foram mantidas sob as mesmas condições e foram manipuladas semelhantemente às coelhas infectadas, o que corroborou na inferência de que fatores como estresse, alimentação, manipulação e outros, não interferiram na sobrevivência dos animais.

Os sinais clínicos observados, como hipertermia, estertores pulmonares, apatia, taquipnéia e secreção

**Tabela 6** – Freqüência de alterações microscópicas encontradas em exames histopatológicos das coelhas pertencentes aos grupos inoculados com  $1 \times 10^4$  oocistos de *T. gondii* (n=9) e não inoculado (n=3).

Órgãos	Alterações microscópicas mais freqüentes	Incidências das alterações	
		Grupo I	Grupo II
Fígado	Esteatose	+++++	-
	Necrose focal	+++	-
	Colangite	+	-
Pulmão	Pneumonia intersticial	+++++	-
	Enfisema	++++	-
	Edema alveolar	++	-
Rins	Vacuolização tubular	++	-
	Edema celular	+	-
Baço	Hemorragia subcapsular	+	-

\* Avaliação variando de: + = pouco freqüente / +++++ = 100% de freqüência

\*\* Grupo I: Inoculado

\*\*\* Grupo II: Não inoculado (controle)

nasal, assemelham-se àqueles descritos por Oppermann (1971) e Sharma *et al.* (1973).

Anormalidades reprodutivas foram observadas não apenas em coelhas, mas também em porcas gestantes (VIDOTTO e COSTA, 1987; JUNGENSEN *et al.*, 2001), vacas gestantes (STALHEIN *et al.*, 1980), camundongos Balb/C (FUX *et al.*, 2000) e cadelas (BRESCIANI *et al.*, 1999) infectadas com *T. gondii*. Por outro lado, infecções experimentais conduzidas por Costa (1979) em vacas, por Marques (1988) em éguas e por Dubey *et al.* (1997) em *Rattus norvegicus*, nada revelaram quanto à interferência de *T. gondii* na gestação. Tal controvérsia sugere que deva haver significativa variação de suscetibilidade a este agente nas diversas espécies animais. Jungersen *et al.* (2001) demonstraram que existe variabilidade na patogenicidade de diferentes cepas de *T. gondii*, principalmente quanto aos transtornos reprodutivos. Condições ambientais, idade e raça são outros fatores que podem interferir no processo mórbido da toxoplasmose (DUBEY, 1977).

A avaliação da resposta imune humoral, representada pelo teste de HAI, teve por objetivo averiguar a presença de imunoglobulinas contra *Toxoplasma gondii* presentes no soro de animais que tiveram contato com o parasita. As respostas encontradas neste exame foram baixas, assim como o foram nos estudos de Jarvinen *et al.* (1999), levando a supor que outras metodologias são necessárias para diagnóstico mais fidedigno. Por outro lado, sabe-se que em infecções de curso superagudo, muitas vezes o organismo não é capaz de produzir uma resposta humoral detectável, mesmo nas titulações de IgM.

Os achados anátomo-histopatológicos das coelhas infectadas demonstram a alta susceptibilidade dos animais gestantes ao *T. gondii*. Severas alterações hepáticas, como esteatose e áreas de necrose focal, foram comuns em quase todos os animais infectados. Pneumonia intersticial, entre outras alterações do trato respiratório, foram observadas freqüentemente, assim como alterações de órgãos como, por exemplo, rins e baço, assemelhando-se às observações de Dubey *et al.* (1996).

Com base nos dados obtidos no presente estudo, pode-se inferir que as coelhas gestantes inoculadas, via esofagiana, com  $1 \times 10^4$  oocistos de *T. gondii*, foram extremamente sensíveis à ação do parasita, apresentando severas alterações em diversos órgãos, assim como aborto e óbito prematuro.

## Referências Bibliográficas

- BLACKWELL, et al. Influence of macrophage resistance gene Lsh/Ity/Bcg (candidate Nramp) on *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Clin Exp Immunol*, Oxford, v.97, n.1, p.107-112, 1994.
- BRESCIANI, K.D, et al. Experimental toxoplasmosis in pregnant bitches. *Vet Parasitol*, Amsterdam, v.86, n.2, p.143-145, 1999.
- CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev.Inst Med Trop*. São Paulo, v.6, n.3, p.117-118, 1964.
- COSTA, A.J. Toxoplasmose congênita natural em bovinos e infecção experimental de vacas gestantes com oocistos

- de *Toxoplasma gondii* (NICOLLE E MANCEAUX, 1909). 1979. 88f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1979.
- DESMONTS, G.; COUVREUR, J., Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull. N.Y. Acad. Med.*, New York, v.50, n.2, p.146,1974.
- DUBEY, J.P. Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis and other tissue cyst-forming coccidia of man and animals. In: KREIER, J.P. *Gregarines, haemogregarines, coccidia, plasmodia, and haemoproteids*. London: London Academic Press, 1977. v.3, p.102-219.
- DUBEY, J.P. et al. Fatal toxoplasmosis in domestic rabbits in the USA. *Vet Parasitol*, Amsterdam, v.44, n.3-4, p. 305-309, 1992.
- DUBEY, J.P.; MATTIX, M. E.; LIPSCOMB, T.P. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. *Vet. Pathol.*, Washington, v.33, p.290-295, 1996.
- DUBEY, J.P. et al. Toxoplasmosis in rats (*Rattus norvegicus*): congenital transmission to first and second generation offspring and isolation of *Toxoplasma gondii* from soronegative rats. *Parasitology*, Cambridge, v.1, p. 9-14, 1997.
- DZBENSKI et al. Experimental toxoplasmosis of the central nervous system in rabbits as a model of human infection. *Acta Parasitol.*, Warsaw, v. 43, n. 3, p. 162-166, 1998.
- ESTEBAN, I. R. et al. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, v. 86, n. 3, p. 155-171, 1999.
- FACHADO, A. et al. Technique for the detection of *Toxoplasma gondii* antigens in mouse urine. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.85, n.1, p.65-68, 1990.
- FUX, B. et al. Experimental toxoplasmosis in Balb/C mice: prevention of vertical disease transmission by treatment and reproductive failure in chronic infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.95, n.1, p.121-126, 2000.
- GARWEG, J. G.; KUENZLI, H.; BOEHNKE, M. Experimental ocular toxoplasmosis in naive and primed rabbits. *Ophthalmologica*, Basel, v. 212, n. 2, p.136-141, 1998.
- HEJLICEK, K.; LITERAK, I. Animal sources and spread of *Toxoplasma gondii*. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. Praha, v. 44, n. 3, p. 121-126, 1995.
- HITT, J.A.; FILICE, G.A. Detection of *Toxoplasma gondii* parasitemia by gene amplification, cell culture, and mouse inoculation. *J Clin Microbiol*, Washington, v.30, n.12, p.3181-3184, 1992.
- HUNTER, C.A. et al. Studies on the role of interleukin-12 in acute murine toxoplasmosis. *Immunology*, Oxford, v.84, n.1, p.16-20, 1995.
- JACOBS, L.; MELTON, M. L. A procedure for testing meat samples for *Toxoplasma* with preliminar results of a survey of pork and beef sample. *J. Parasitol.*, Lancaster, v.42, n. 2, p.38-39, 1957.
- JARVINEN, J.A. et al. Clinical and sorological evaluation of two llamas (*Lama glama*) infected with *Toxoplasma gondii* during gestation. *J Parasitol*, Lancaster, v.85, n.1, p.142-144, 1999.
- JUNGERSEN, G. et al. Transplacental transmission of *Toxoplasma gondii* in minipigs infected with strains of different virulence. *J Parasitol*, Lancaster, v.87, n.1, p.108-113, 2001.
- LINKLATER, K.A.; DYSON, D.A. Field studies on enzootic abortion of ewes in South East Scotland. *Vet. Rec.*, London, v.105, p. 387-389, 1979.
- LITERAK, I; RYCHLIK, I. Genome changes in the *Toxoplasma gondii* strains during laboratory passages in mice. *Acta Veterinaria Brno.*, Brno, v. 68, n. 3, p.203-208, 1999.
- MANGOLD, U. et al. Morphological and chemical investigations of wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus* L.): a preliminary report in regard to the causes of their population decline. *Zeitsch. Jagdwissen*, v. 45, n. 2, p. 139-146, 1999.
- McSPORAN, K.D. et al. Toxoplasmosis in goats. *N. Z. Vet.*, Wellington, v.33, p.39-40, 1985.
- MARQUES, L.C. *Infecção experimental de éguas gestantes com oocistos de Toxoplasma gondii*. NICOLLE e MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: SARCOCYSTIDAE), 1988. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1988.
- MORETTI, A. et al. Cutaneous toxoplasmosis: clinical and histopathological study in experimentally infected rabbits. *Acta Med. Vet.*, Napoli, v. 41, n. 3, p. 187-199, 1995.
- OPPERMANN, W.H. *Versuche zun experimenttellen infecion des hundes mit Toxoplasma –oozysten*. Universitat Berlin, Inst. Fur. Parasitologie des Fachbereiches Veterinarmedizin, Berlin, 1971. 31p. (Inalgalural-Dissertation).
- PEIFFER, R.L. et al. (Ed.). *Models in opthalmology and vision research* : the biology of the laboratory rabbit. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1994. p. 409-433.
- SHALABY et al. Biochemical studies in experimental toxoplasmosis in rabbits. *Bulletin Nat. Res. Cent.*, v. 20, n. 4, p.459-466, 1998
- SHARMA, S. P.; GAUTAM, O. P.; KHAROLE, M.U. Studies on some aspects of pathogenesis, chemotherapy and serology of experimental toxoplasmosis in dogs. *Indian Vet J.*, Madras, v.50, n.7, p.623-626, 1973.
- STALHEIN, O. H.V. et al. Experimental toxoplasmosis in calves and pregnant cows. *Am. J. Vet. Res.*, Chicago, v.41, n. 1, p. 10-13, 1980.
- SVOBODA, M.; SVOBODOVA, V. Effects of breed, sex, age, manegement and nutrition on the incidence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs and cats. *Acta Vet Brno*, Brno, v. 56, n.3, p. 315-330, 1987.
- THOUVENIN, M. et al. Immune response in a murine model of congenital toxoplasmosis: increased susceptibility of pregnant mice and transplacental passage of *Toxoplasma gondii* are type 2-dependent. *Parassitologia*, Roma, v.39, n.4, p.279-283, 1997.
- VIDOTTO, O.; COSTA, A. J. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes: observações clínicas e hematólógicas. *Arq. Bras. Med. Vet Zootec.*, Belo Horizonte, v.39, p.623-639, 1987.
- VITOR, R.W.A. Avaliação do rato Wistar como modelo experimental para estudo da toxoplasmose congênita. In: ENCONTRO DE PESQUISA DO ICB/UFMG, 4, 1994, Belo Horizonte. *Resumos...* Belo Horizonte: UFMG, 1994. p.34.
- VITOR, R.W.A.; PINTO, J.B. Eliminação de *Toxoplasma*

*gondii* através de urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v.42, n.2, p.147-154, 1991.

WARNEKULASURIYA, M. R. JOHNSON, J. D.; HOLLIMAN, R. E. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. *Inter. J. Food Microbiol.*, Amsterdam, v. 45, n. 3, p. 211-215, 1998.

WATANABE, H. et al. *Toxoplasma gondii* : induction of toxoplasmic encephalitis in mice with chronic infection by inoculation of a murine leukemia virus inducing immunodeficiency. *Exp. Parasitol.*, New York, v.76, n.1, p.39-45, 1993.