

## COMPORTAMENTO IMUNOLÓGICO E ANTIGÊNICO DE CINCO AMOSTRAS DE *Toxoplasma gondii* INOCULADAS EM GATOS<sup>1</sup>

### IMMUNOGENIC AND ANTIGENIC ASPECTS FROM FIVE *TOXOPLASMA GONDII* STRAINS INOCULATED IN CATS

Italmar Teodorico Navarro<sup>2</sup> Odilon Vidotto<sup>2</sup> Andréa Carlos Bekner da Silva<sup>3</sup> Regina Mitsuka<sup>3</sup>  
José Vitor Jankevicius<sup>4</sup> Paula Namie Shida<sup>5</sup> José de Angelis Cortês<sup>6</sup>

#### RESUMO

A biologia do *Toxoplasma gondii* demonstra que o gato é o hospedeiro completo, responsável pela disseminação do parasita. Assim, dois gatos domésticos foram imunizados com cada uma das amostras, VPS (humano), LIV-IV e LIV-V (suíno), CPL (caprino) e CN (felino) de *T. gondii*. Foram utilizados taquizoítas vivos em inóculos endovenosos de  $2 \times 10^6$  (1º inóculo) e  $4 \times 10^7$  (2º inóculo - 35 dias após), exceto a amostra VPS, onde 1 gato morreu no 10º dia com sinais clínicos agudos da doença, nas outras amostras, nenhum sinal clínico foi constatado durante os 6 meses de observação. O nível de anticorpos na imunização foi acompanhado através da reação de imunofluorescência indireta (IFI) com conjugado anti-IgG de felino. Os títulos de anticorpos obtidos no 20º dia variaram de 1:1.024 a 1:4.096 e de 1:1.024 a 1:8.000 no 40º dia. Somente a amostra VPS expressou títulos de 1:16.000 no 30º dia da imunização. Títulos homólogos e heterólogos foram equivalentes sem nenhuma diferença entre as amostras. Quando soros imunes foram adsorvidos com taquizoítas vivos de cada amostra, a redução nos títulos de anticorpos foi demonstrada em ambos homólogos e heterólogos. Esses resultados sugerem que, embora diferente em virulência para gatos, a superfície antigênica é comum entre as amostras do *T. gondii*, com base no nível de anticorpo demonstrado pela IFI. Esses resultados também demonstram que, aparentemente, não há correlação entre virulência e as características sorológicas das amostras estudadas no *T. gondii*. Entretanto, a importância do teste IFI em diagnóstico laboratorial é reforçada.

**Palavras-chave:** *Toxoplasma gondii*, antígeno, gatos.

#### SUMMARY

The biology of *Toxoplasma gondii* demonstrate that cats are the complete host responsible for the dissemination of this parasites. Two domestic cats were immunised with *Toxoplasma gondii* strains VPS (human), LIV-IV and LIV-V (porcine), CPL (caprine) and CN (feline). Live tachyzoites were utilized in intravenous inoculation of  $2 \times 10^6$  (first inoculum) and  $4 \times 10^7$  (second inoculum - 35 days later), except for strain VPS, where one cat died 10 days after the first inoculation and another showed symptoms of acute toxoplasmosis. In all other strains, no clinical signs were detected during 6 months of observation. The antibody response after immunization was monitored by indirect immunofluorescence (IF) test by the use of anti-cat IgG conjugate. The antibody titers obtained at the 20<sup>th</sup> day varied from 1:1,024 to 1:4,096 and from 1:1,024 to 1:8,000 at the 40<sup>th</sup> day. Only the VPS strain attained titers of 1:16,000 at the 30<sup>th</sup> day of immunization. Homologous and heterologous titers were equivalent without any difference among the strain. When the immune sera were adsorbed with live tachyzoites, a reduction in the antibody titers was demonstrated both in homologous and heterologous levels. These results suggest that although differences in virulence for cats are evident among the strains. The surface antigens are common among the *T. gondii* strains on the basis of IF antibody level. The results also demonstrated that apparently there is no correlation between virulence and serological characteristics of the studied strains of *Toxoplasma gondii*. However the importance of the IF test in the laboratorial diagnosis of Toxoplasmosis is reinforced.

**Key words:** *Toxoplasma gondii*, antigenic, cat.

<sup>1</sup>Financiado: CPG / UEL e CNPq.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Doutor, Professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Estadual de Londrina (UEL), Campus Universitário, Caixa Postal 6001, 86051-990, Londrina, PR. E-mail: italmar@npd.uel.br.  
Autor para correspondência.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Mestranda do Departamento de Patologia Geral (DPG), Centro de Ciências Biológicas (CCB), UEL.

<sup>4</sup>Biólogo, Doutor, Professor do DPG, CCB, UEL.

<sup>5</sup>Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da UEL, Bolsista I C / CNPq.

<sup>6</sup>Médico Veterinário, Doutor, Professor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, FMVZ, Universidade de São Paulo - USP.

## INTRODUÇÃO

A toxoplasmose, zoonose decorrente da infecção pelo *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909), tem sido considerada por APTL (1973), como a parasitose mais freqüente na espécie humana e provavelmente entre todos os animais homeotérmicos. De natureza cosmopolita, apresenta uma prevalência global média, a julgar pelas enquetes sorológicas, da ordem de 25% da população humana adulta do mundo. Na maioria das vezes, o *Toxoplasma gondii* parasita o hospedeiro sem produzir sintomas e a exposição ao agente infeccioso é suficiente para garantir, na maioria dos casos, sua instalação e persistência no organismo parasitado, face à capacidade que apresenta de formar cistos nos diversos tecidos (Mc KINNEY, 1973; JONES, 1973), com consequente indução da imunidade contra a reinfecção (REMINGTON & KRAHENBUHL, 1982). Mas, apesar da elevada freqüência de infecção inaparente, essa zoonose pode manifestar-se como doença sistêmica severa, tal é o caso da forma congênita (REMINGTON, 1968; DESMONDS & COUVREUR, 1974), ou da forma adquirida em pacientes imunodeprimidos (FRENKEL *et al.* 1975; RUSKIN & REMINGTON, 1976). Desta forma, sua importância no âmbito da saúde pública, reside no fato de representar uma apreciável causa de morbidade neonatal, com ocorrência de lesões oculares, de intensidade variável, e alterações cerebrais graves (FRENKEL, 1973).

Na natureza, inúmeras espécies de mamíferos e aves são comumente acometidas pela toxoplasmose. Os felídeos, contudo, são considerados como hospedeiros preferenciais e principais fontes de infecção para os herbívoros e, em menor expressão, para seus predadores. Epidemiologicamente, o contato com solo contaminado com fezes de gatos infectados é mais importante que o contato direto com os gatos. Assim, os ovinos, os caprinos e outros herbívoros, tornam-se infectados pastando em áreas contaminadas. A infecção destes hospedeiros, depende, não apenas das condições ambientais, mas principalmente da densidade populacional de gatos da área, que irá determinar o grau de contaminação do solo com oocistos do parasita que os hospedeiros suscetíveis podem ingerir (RUIZ & FRENKEL, 1980). Devido ao importante papel desempenhado pelo gato na epidemiologia da toxoplasmose, tem-se realizado numerosos estudos sobre a infecção dessa espécie animal, buscando associar a existência de anticorpos circulantes com a presença de oocistos nas fezes. Tais observações, embasadas em provas sorológicas, têm revelado que a população de gatos,

nos diferentes países, apresenta prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* entre 0 e 100% (DUBEY & BEATRICE, 1989; LAPPIN *et al.*, 1989b; UGGLA, 1990). Por outro lado, os levantamentos sorológicos apresentam, por vezes, resultados díspares em razão de inúmeros fatores, entre os quais: a estrutura e condições da população de gato estudada; a natureza das provas sorológicas adotadas; as amostras do parasita utilizadas como antígeno e/ou como indutoras do processo doença. Diante de tal diversidade, numerosos estudos experimentais têm sido idealizados, objetivando apreciar, em condições controladas, os aspectos apontados, em especial, para a elucidação da composição antigênica e correspondente capacidade imunogênica do *T. gondii*. O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento imunogênico e antigênico de diferentes amostras de *T. gondii* inoculadas artificialmente em gatos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram inoculados quatro camundongos com 0,2 ml de uma suspensão de taquizoítas vivos, de *T. gondii*, em solução salina (0,9% NaCl) estéril, obtida através da lavagem peritoneal de camundongos previamente inoculados, com cada uma das amostras do *T. gondii*, em estudo, VPS (humano), CPL-1 (caprino), CN (felino) e LIV-IV e LIV-V (suíno). Quarenta e oito horas após a inoculação, os camundongos foram sacrificados em ambiente saturado com éter e, em seguida, procedeu-se a lavagem da cavidade peritoneal com 3ml de salina estéril, colhendo-se desta forma, a suspensão de taquizoítas vivos. Para remoção de células do hospedeiro, foi utilizada a filtração em membranas de policarbonato, com poros de 3µm (Nucleopore Corporation) segundo HANDMAN & REMINGTON (1980). Após purificação, as amostras foram centrifugadas (3.000 G 15 minutos), padronizadas por contagem dos taquizoítas em câmara de Neubauer e ressuspensas em salina estéril. Cada uma das amostras assim preparadas, serviram como base para o antígeno na sorologia, como inóculo dos gatos e como antígeno para adsorção dos soros imunes.

Para a obtenção dos soros, foram selecionados 10 (dez) gatos jovens, sem raça definida, com idade variando entre 3 e 4 meses e peso médio de 800 gramas e negativos (título menor que 1:8) para anticorpos anti-*T. gondii* pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), bem como ausência de oocistos de *T. gondii* nas fezes pela técnica de centrifugo-flutuação em açúcar (SHEATHER, 1923). Após um período de 30 dias, de rigoroso monitora-

mento, obteve-se soro de cada animal que serviu de controle negativo para todo o experimento. Os gatos foram inoculados, em duplicata, com  $8 \times 10^6$  taquizoítas vivos de cada amostra, por via intraperitoneal e, 45 dias após, receberam uma segunda dose de  $3 \times 10^7$  taquizoítas vivos pela mesma via. Os gatos foram observados durante todo o período experimental, sendo submetidos diariamente a exames clínicos. A cada 3 dias foram efetuadas colheitas de fezes, durante os 30 dias subsequentes à inoculação. Semanalmente procedeu-se à colheita de sangue, durante os 6 meses de duração do experimento. Os soros obtidos das amostras colhidas no 49º dia serviram como soros imunes, utilizados neste trabalho.

Aliquotas de 0,5ml de cada soro imune foram utilizadas para ressuspender  $10^7$  taquizoítas vivos de cada amostra, previamente sedimentados a 15.000 G por três minutos em centrífuga de Eppendorf e incubados por 45 minutos, a 37 °C; novamente centrifugadas a 15.000 G, durante três minutos, separando-se o sobrenadante (soro adsorvido). Tal procedimento foi realizado três vezes com todas as amostras. Posteriormente, testou-se a reatividade dos soros adsorvidos com as 5 amostras do parasita, pela RIFI.

Os aspectos imunogênicos e os antigênicos foram analisados pela RIFI, como se segue. Os抗ígenos utilizados foram preparados a partir de cada amostra, segundo técnica descrita por CAMARGO (1973). As amostras dos soros, diluídas em PBS pH 7,2 (1:16, 1:64, 1:128, 1:256, 1:1.024, 1:4.096, 1:8.192, 1:16.384, 1:32.768) foram incubadas com as várias amostras do parasita em lâminas apropriadas para imunofluorescência. Utilizou-se o conjugado IgG de coelho, anti-IgG de gato, marcado com isotiocianato de fluoresceína SIGMA/CHEMICAL. Foi utilizado um microscópio de imunofluorescência Nikon, dotado de epiluminação por lâmpada de halogênio, filtro B, para leitura das reações. Em todas as lâminas havia um soro controle positivo e um soro controle negativo, os quais ori-

entavam a interpretação de cada reação, de acordo com a intensidade e localização da fluorescência visualizada nos taquizoítas, segundo CAMARGO (1973).

## RESULTADOS

O acompanhamento clínico dos gatos, durante o experimento de imunização, revelou em todos os animais, quadro clínico compatível com a toxoplasmose aguda, com sinais clínicos que variaram de hipertermia (38,5 a 40,3 °C) à corrimiento ocular com quadro pulmonar e fezes pastosas a líquidas. Apesar disso, nenhum animal eliminou oocistos de *T.gondii*, que pudesse ser detectados pela técnica utilizada (SHEATHER, 1923).

O título médio de anticorpos dos animais de cada grupo aferidos pela RIFI, segundo a amostra e o momento da sangria, estão expostos na Tabela 1. Observou-se ainda os resultados obtidos pela primeira imunização, mostrando títulos oscilando entre 1:256 e 1:16.384; na 4ª semana, após a dose de reforço, a resposta imune foi mais intensa, revelando títulos de anticorpos (RIFI) com valores médios que

Tabela 1 - Recíproca dos títulos de anticorpos obtidos pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em soros de gatos inoculados, via intraperitoneal, com  $8 \times 10^6$  taquizoítas (1º inóculo) e  $3 \times 10^7$  taquizoítas (2º inóculo). Londrina / PR.

SEMANAS	AMOSTRAS / GATOS									
	VPS		CPL-I		CN		LIV-IV		LIV-V	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0*	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
01	256	-	256	16	256	256	64	64	64	64
02	4096	***	4096	1024	1024	1024	64	64	1024	1024
03	8192		4096	1024	1024	1024	64	64	1024	1024
04	16384		4096	256	1024	1024	1024	4096	1024	1024
05	16384		4096	256	256	256	256	1024	1024	1024
06**	16384		1024	256	256	256	256	256	1024	1024
07	16384		16384	4096	4096	1024	1024	8192	4096	4096
08	16384		8192	4096	4096	1024	8192	8192	4096	4096
09	8192		4096	4096	4096	1024	4096	4096	4096	4096
10	8192		4096	1024	1024	1024	4096	4096	1024	4096
12	4096		4096	256	1024	1024	4096	4096	1024	1024
14	4096		1024	256	1024	1024	4096	4096	1024	1024
16	4096		1024	256	1024	1024	4096	4096	256	1024
18	4096		1024	256	1024	1024	1024	1024	256	256
20	4096		1024	256	1024	1024	1024	1024	256	256
22	4096		1024	256	1024	1024	1024	1024	256	256
24	4096		1024	256	1024	1024	1024	1024	256	256

\* - 1º inóculo; \*\* - 2º inóculo; \*\*\* - óbito do gato; neg - negativo.

oscilaram entre 1:4.096 e 1:16.384. A partir da 8<sup>a</sup> semana pós inoculação inicial, os valores dos títulos de anticorpos (RIFI) apresentaram uma tendência decrescente até uma aparente estabilidade da ordem de 1:256 a 1:4.096, condição essa que prevaleceu até o final do experimento, na 24<sup>a</sup> semana.

Os valores da Tabela 2 evidenciam uma similitude dos perfis imunológicos qualitativos correspondente à cada uma das amostras estudadas, que registra os valores médios da recíproca dos títulos de anticorpos (RIFI), expresso em log(10), segundo amostra do parasita e o momento de sangria dos animais. Os resultados individuais de cada soro nas reações homólogas e heterólogas estão na Tabela 3, onde os valores obtidos indicaram que, ainda quando os soros apresentassem níveis diferentes de anticorpos, o resultado da prova independeu da amostra antigênica utilizada, apontando para uma unicidade imunológica.

A condição apontada em relação aos dados da Tabela 3 persistiu, mesmo quando os soros foram submetidos à adsorção de anticorpos frente a amostras homológas e heterólogas, conforme indi-

cam os valores inseridos na Tabela 3, que contempla as recíprocas dos títulos de anticorpos (RIFI) dos soros de gatos, inoculados com diferentes amostras de *T.gondii*, adsorvidos com amostras antigênicas homólogas e heterólogas do parasita. Essa adsorção acarretou uma queda evidente nos títulos, tanto homólogo como heterólogo de anticorpos (RIFI) deste soro, com flutuação que oscilou dentro de uma faixa de 1 a 2 diluições. O exame da Tabela 4, exemplifica o ocorrido com cada uma das amostras que foram submetidas à adsorção homóloga e heteróloga, evidenciando um perfil de tendência decrescente nos valores dos títulos de anticorpos (RIFI) dos soros, persistindo, à medida que repetições de adsorções foram procedidas, queda esta que também se refletiu nas reações heterólogas.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo põem em evidência relevantes aspectos relativos à história natural da toxoplasmose, em gatos. Relativamente à patogenicidade do agente, constatamos que, exceção feita à amostra CPL-I, as demais foram capaz de induzir um quadro clínico, em gatos, similar ao perfil sintomatológico mais comumente descrito para toxoplasmose nessa espécie, inclusive com um caso de óbito ao 9º dia pós-infeção, apesar de nenhum animal eliminar oocistos de *Toxoplasma gondii*. Mesmo considerando o reduzido número de animais inoculados por amostra utilizada (dois por amostra), a observação global, concernente ao perfil da doença clínica, está em consonância com os achados de DUBEY (1972; 1995), FRENKEL & SMITH (1992), HENRIKSEN *et al.* (1994), contudo, discorda desses mesmos autores no tocante à eliminação de oocistos. Por oportuno HAGIWARA *et al.* (1981) justificam tal diferença pela resposta do organismo.

Tabela 2 - Recíproca imunitária dos animais frente ao desafio de taquizoítas vivos de *Toxoplasma gondii*, expresso média dos títulos de anticorpos dos animais de cada grupo aferidos pela RIFI, segundo a amostra do parasita e o momento da sangria dos animais. Londrina-PR.

SEMA-NAS	AMOSTRAS				
	VPS Tit. (log <sub>10</sub> )	CPL-I Tit. (log <sub>10</sub> )	CN Tit. (log <sub>10</sub> )	LIV-IV Tit. (log <sub>10</sub> )	LIV-V Tit. (log <sub>10</sub> )
0*					
01	256 (2.408)	1036 (2.133)	256 (2.408)	64 (1.806)	64 (1.806)
02	4096 (3.612)	256 (3.408)	1024 (3.010)	64 (1.806)	1024 (3.010)
03	8192 (3.913)	2176 (3.337)	1024 (3.010)	1014 (3.010)	1024 (3.010)
04	16384 (4.214)	2176 (3.337)	1024 (3.010)	2560 (3.408)	1024 (3.010)
05	16384 (4.214)	2176 (3.337)	256 (2.408)	640 (2.806)	1024 (3.010)
06**	16384 (4.214)	640 (2.806)	256 (2.408)	256 (2.408)	1024 (3.010)
07	16384 (4.214)	11240 (4.050)	5120 (3.709)	4608 (3.663)	4096 (3.612)
08	16384 (4.214)	6144 (3.788)	2560 (3.709)	4608 (3.663)	4096 (3.612)
09	8192 (3.913)	4096 (3.612)	2560 (3.408)	4096 (3.612)	4096 (3.612)
10	8192 (3.913)	2560 (3.408)	1024 (3.010)	4096 (3.612)	2560 (3.408)
12	4096 (3.612)	2176 (3.337)	1024 (3.010)	4096 (3.612)	1024 (3.010)
14	4096 (3.612)	640 (2.806)	1024 (3.010)	4096 (3.612)	1024 (3.010)
16	4096 (3.612)	640 (2.806)	1024 (3.010)	4096 (3.612)	640 (2.806)
18	4096 (3.612)	640 (2.806)	1024 (3.010)	1024 (3.010)	256 (2.408)
20	4096 (3.612)	640 (2.806)	1024 (3.010)	1024 (3.010)	256 (2.408)
22	4096 (3.612)	640 (2.806)	1024 (3.010)	1024 (3.010)	256 (2.408)
24	4096 (3.612)	640 (2.806)	1024 (3.010)	1024 (3.010)	256 (2.408)

\* 1º - 1º inóculo; \*\* - 2º inóculo

Tabela 3 - Recíprocas dos títulos de anticorpos (RIFI) dos soros de gatos, inoculados com diferentes amostras de *T. gondii*, adsorvidos com amostras antigênicas homólogas e heterólogas do parasita. Londrina-PR.

Antisoro de gatos	Adsorvidos com Antígenos	ANTÍGENOS				
		VPS	CPL-I	CN	LIV-IV	LIV-V
VPS	sem ads.	4096	4096	4096	4096	4096
	VPS	<b>1024</b>	1024	1024	1024	1024
	CPL-I	1024	<b>1024</b>	1024	1024	1024
	CN	1024	1024	<b>1024</b>	1024	1024
	LIV-IV	1024	1024	1024	<b>1024</b>	1024
	LIV-V	2048	1024	2048	2048	<b>2048</b>
CPL-I	sem ads.	4096	4096	4096	4096	4096
	VPS	<b>2048</b>	2048	2048	2048	2048
	CPL-I	1024	<b>1024</b>	1024	1024	1024
	CN	2048	2048	<b>2048</b>	2048	2048
	LIV-IV	2048	2048	2048	<b>2048</b>	2048
	LIV-V	2048	2048	2048	2048	<b>2048</b>
CN	sem ads.	4096	4096	4096	4096	4096
	VPS	<b>2048</b>	2048	2048	2048	2048
	CPL-I	1024	<b>2048</b>	1024	2048	2048
	CN	1024	1024	<b>2048</b>	1024	1024
	LIV-IV	2048	1024	2048	<b>1024</b>	1024
	LIV-V	1024	1024	1024	1024	<b>1024</b>
LIV-IV	sem ads.	4096	4096	4096	4096	4096
	VPS	<b>2048</b>	2048	1024	1024	1024
	CPL-I	2048	<b>1024</b>	2048	1024	2048
	CN	2048	1024	<b>1024</b>	1024	1024
	LIV-IV	2048	2048	2048	<b>2048</b>	2048
	LIV-V	1024	1024	1024	1024	<b>1024</b>
LIV-V	sem ads.	4096	4096	4096	4096	4096
	VPS	<b>1024</b>	2048	1024	1024	1024
	CPL-I	2048	<b>2048</b>	2048	1024	1024
	CN	1024	1024	<b>1024</b>	1024	1024
	LIV-IV	2048	2048	1024	<b>1024</b>	1024
	LIV-V	1024	1024	1024	1024	<b>1024</b>

OBS.: As reações homólogas estão assinaladas em negrito.

mo ao *Toxoplasma gondii* em função da via de inoculação e/ou da dose do inóculo, bem como do estágio do parasita inoculado.

No que concerne à resposta imunitária, os resultados nas Tabelas 1 e 2 mostram que os níveis de anticorpos induzidos, em gatos, expressos pelos valores médios da recíproca dos títulos, obtidos pela RIFI, apontam na reação com soros homólogos, uma semelhança no perfil imunológico qualitativo, ainda

que oscilações individuais na intensidade da resposta imune tenham sido observadas. Tais flutuações, particularmente importantes em experimentos de natureza quantitativa, poderiam estar associadas à capacidade de resposta individual dos animais utilizados ou a problemas inerentes ao próprio método de imunofluorescência indireta, que admite variações da ordem de uma diluição CAMARGO (1973), MITSUKA *et al.* (1991), OMATA *et al.* (1994). De fato, como bem enfatiza SHARMA (1990), os gens dos抗ígenos de histocompatibilidade H-2 constituem a base da resistência do hospedeiro à toxoplasmose. Como os gatos utilizados no presente experimento não eram geneticamente homogêneos parece perfeitamente coerente que apresentassem diferenças genéticas capazes de contribuir para a variação da intensidade da resposta imune.

Por outro lado, quando se procura consolidar a informação obtida em tais perfis, através de reações cruzadas, onde cada um dos抗ígenos, de *per si*, era confrontado com o soro de todas as amostras estudadas, obteve-se os resultados da Tabela 3, que mostram terem sido as reações heterólogas absolutamente equivalentes, em termos qualitativos, às homólogas, sugerindo que os soros obtidos, independentemente da amostra utilizada na indução de anticorpos, reconheceu, igualmente, todos as amostras do parasita examinadas. Isso posto, parece lícito afirmar-se que, qualquer que seja o抗ígeno utilizado, o resultado sorológico obtido pela RIFI será, provavelmente, o mesmo. Como essa técnica é realizada com anticorpos policlonais, compreendendo anticorpos contra o conjunto de todos os determinantes antigenicos do parasita, tanto citoplasmático como de superfície, o resultado final é igual, não permitindo qualquer distinção entre as amostras por ela analisadas. DUBEY *et al.* (1989) e LAPPIN *et al.* (1989a,c), trabalhando com gatos infectados com oocistos de *Toxoplasma gondii*, e utilizando como

Tabela 4 - Recíprocas dos títulos de anticorpos (RIFI) dos soros de gatos, inoculados com diferentes amostras de *T. gondii*, adsorvidos triplamente com amostras VPS antigenicas homólogas e heterólogas do parasita. Londrina-PR.

Antisoro de gatos	Adsorvidos com Amostra VPS	ANTÍGENOS				
		VPS	CPL-I	CN	LIV-IV	LIV-V
VPS	sem ads.	<b>4096</b>	4096	4096	4096	4096
	1 <sup>a</sup> ads.	<b>1024</b>	1024	1024	1024	1024
	2 <sup>a</sup> ads.	<b>256</b>	256	256	256	256
	3 <sup>a</sup> ads.	<b>64</b>	64	64	64	64
CPL-I	sem ads.	4096	<b>4096</b>	4096	4096	4096
	1 <sup>a</sup> ads.	2048	<b>2048</b>	2048	2048	1024
	2 <sup>a</sup> ads.	256	<b>256</b>	256	256	256
	3 <sup>a</sup> ads.	64	<b>64</b>	64	64	64
CN	sem ads.	4096	4096	<b>4096</b>	4096	4096
	1 <sup>a</sup> ads.	2048	2048	<b>2048</b>	1024	1024
	2 <sup>a</sup> ads.	256	256	<b>256</b>	256	256
	3 <sup>a</sup> ads.	64	64	<b>64</b>	64	64
LIV-IV	sem ads.	4096	4096	4096	<b>4096</b>	4096
	1 <sup>a</sup> ads.	2048	2048	1024	<b>1024</b>	1024
	2 <sup>a</sup> ads.	256	256	256	<b>256</b>	256
	3 <sup>a</sup> ads.	64	64	64	<b>64</b>	64
LIV-V	sem ads.	4096	4096	4096	4096	<b>4096</b>
	1 <sup>a</sup> ads.	1024	2048	1024	1024	<b>1024</b>
	2 <sup>a</sup> ads.	256	256	256	256	<b>256</b>
	3 <sup>a</sup> ads.	64	64	64	64	<b>64</b>

OBS.: As reações homólogas estão assinaladas em negrito.

amostras não apresentou modificações. Ainda após a repetição da operação de adsorção, quando se verificou nova queda acentuada nos títulos de anticorpos, a reação cruzada entre as amostras permaneceu inalterada, conforme se configura na apreciação das Tabela 4. Corroboram com estes achados as observações de BEKNER SILVA *et al.* (1994) que, trabalhando com suínos, demonstraram, igualmente, a equivalência da resposta imune, homóloga e heteróloga, de amostras do *Toxoplasma gondii*, bem como a redução dos títulos de anticorpos, quando da adsorção dos soros específicos com taquizoítas vivos. Esses autores sugerem que os抗ígenos de superfície poderiam ser responsáveis pela maior parte das reações sorológicas de *Toxoplasma gondii*, as quais seriam semelhantes em todas amostras do parasita; e que a reação de imuno-fluorescência indireta não se mostrou adequada para distinguir sorologicamente amostras do parasita.

provas sorológicas a hemaglutinação indireta, látex aglutinação, Sabin-Feldman e aglutinação modificada, constataram também a identidade do perfil imunológico de amostras desse parasita.

Os resultados obtidos tornam-se ainda mais consistentes quando cada soro, de *per si*, foi submetido à adsorção pelas diferentes amostras de antígeno utilizadas. De fato, quando taquizoítas vivos, das diferentes amostras de *Toxoplasma gondii*, foram adicionados, em excesso, às alíquotas dos anti-soros, incubados e sedimentados, os anticorpos que reconheceram os componentes da superfície dos parasitas devem ter sido consumidos, o que explica a redução dos títulos, observada na Tabela 4. Os valores dessa tabela mostram que, a despeito da redução dos títulos de anticorpos, o perfil imunológico das

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APTL, W., THERMANN, E., NIEDMAN, G., *et al.* *Toxoplasmosis*. Santiago, Arancibia Horns, 1973, 160 p.
- BECKNER SILVA, A.C., MITSUKA, R., NAVARRO, I.T., *et al.* Immunogenic and antigenic aspects from different *Toxoplasma gondii* strains inoculated in swine and evaluated by indirect immunofluorescence. *Rev Bras Parasitol Vet*, v. 3, n. 1, p. 17-22, 1994.
- CAMARGO, M.E. Introdução às técnicas de imuno-fluorescência. *Rev Bras Patol Clin*, v. 10, p. 143-171, 1973.
- DESMONTS, G., COUVREUR, J. Congenital toxoplasmosis a prospective study of 378 pregnancies. *New Engl J Med*, v. 290, p. 1110-1116, 1974.
- DUBEY, J.P., FRENKEL, J.K. Cyst-Induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool*, v. 19, p. 155-177, 1972.

- DUBEY, J.P., BEATRICE, C.P., **Toxoplasmosis in cats In:** SETTI, K.K. **Toxoplasmosis of animals and man.** Florida. CRC Press, v. 7, p. 117-125, 1989.
- DUBEY, J.P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii*: oocysts by cats. **J Parasitol**, v. 8, n. 3, p. 410-415, 1995.
- FRENKEL, J.K. Toxoplasma in and around us. **Bioscience**, v. 23, p. 343-352, 1973.
- FRENKEL, J.K., NELSON, B.M., ARIAS-STELLA, J. Immunosuppression and toxoplasmic encephalitis: clinical and experimental aspects. **Human Pathol**, v. 6, p. 97-111, 1975.
- FRENKEL, J.K., SMITH, D.D. Immunization of cats against shedding *Toxoplasma gondii* oocysts. **J Parasitol**, v. 68, p. 744-748, 1992.
- HANDMAN, E., REMINGTON, J.S. Serological and immunochemical characterization of monoclonal antibodies to *Toxoplasma gondii*. **Immunology**, v. 40, p. 579, 1980.
- HAGIWARA, T., KATSUBE, Y., MUTO, T. Experimental feline toxoplasmosis. **Jap J Vet Sci**, v. 43, p. 329-336, 1981.
- HENRIKSEN, P., DIETZ, H.H., HENRIKSEN, S.A. Fatal toxoplasmosis in five cats. **Vet Parasitol**, v. 55, p. 15-20, 1994.
- JONES, S.R. Toxoplasmosis: A review. **J Am Vet Med Ass**, v. 163, p. 1038-1042, 1973.
- LAPPIN, M.R., GREENE, C., PRESTWOOD, A.K., *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M. **Am J Vet Res**, v. 50, p. 1580-1585, 1989a.
- LAPPIN, M.R., GREENE, C., PRESTWOOD, A.K., *et al.* Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats in Georgia using enzyme-linked immunosorbent assay for IgM, IgG and antigens. **Vet Parasitol**, v. 33, p. 225-230, 1989b.
- LAPPIN, M.R., GREENE, C., WISTONS, S., *et al.* Clinical feline toxoplasmosis. **J Vet**, v. 3, p. 139-143, 1989c.
- McKINNEY, H.R. A study of Toxoplasma infection in cats as detected by the indirect fluorescence antibodies method. **Vet Med Samall Anim Clin**, v. 68, p. 493-495, 1973.
- MITSKA, R., BEKNER SILVA, A.C., VIDOTTO, O., *et al.* Antigenic comparasions among eight *Toxoplasma gondii* strains from different sources. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 284, 1991.
- NICOLLE, C., MANCEAUX, L. Sur un protozoaire nouveau du gondii. Paris, **C R Acad Sci Paris**, v. 147, p. 763-766, 1909.
- OMATA, Y., OIKAWA, H., KANDA, M., *et al.* Transfer of antibodies to kittens from mother cats chronically infected with *Toxoplasma gondii*. **Vet Parasitol**, v. 52, p. 211-218, 1994.
- REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis and congenital infection. **National fundation of the march of dimes**, v. 4, p. 47-56, 1968.
- REMINGTON, J.S., KRAHENBUHL, J.L. Immunology of *Toxoplasma gondii*. In: NAHMIAS, A.J.; O'REILLY, R.I. **Comprehensive immunology**. Plenum Press, New York, 1982, p. 327-371.97.
- RUIZ, A., FRENKEL, J.K. *Toxoplasma gondii* in Costa Rican cats. **Amer J Trop Med Hyg**, v. 29, p. 1150-1160, 1980.
- RUSKIN, J., REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis in the compromised host. **Ann Intern Med**, v. 84, p. 193-199, 1976.
- SHARMA, S.D. Immunology of toxoplasmosis. In: WYLER, D.I. **Modern parasite biology: Cellular, immunological and molecular aspects**. New York, W H Freeman, New York, 1990, p. 428.
- SHEATHER, A.T. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **J Comp Pathology**, v. 36, p. 266-275, 1923.
- UGGLA, A., MATTSON, S., JUNTII, N. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats, dogs and horses in Sweden. **Acta Vet Scand**, v. 31, p. 319-322, 1990.