

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DISCIPLINA DE METODOLOGIA APLICADA À CONCLUSÃO DE CURSO**

**ACHADOS PATOLÓGICOS E DOENÇAS CONCOMITANTES EM CANINOS E
FELINOS COM TOXOPLASMOSE**

Lauren Santos de Mello

PORTO ALEGRE

2015/1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DISCIPLINA DE METODOLOGIA APLICADA À CONCLUSÃO DE CURSO**

**ACHADOS PATOLÓGICOS E DOENÇAS CONCOMITANTES EM CANINOS E
FELINOS COM TOXOPLASMOSE**

Autor: Lauren Santos de Mello

**Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para a
obtenção da Graduação em Medicina
Veterinária.**

**Orientador: Saulo Petinatti Pavarini
Orientadora: Raquel Aparecida Sales da
Cruz**

PORTO ALEGRE

2015/1

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, parasita intracelular obrigatório, conhecido por sua ampla distribuição mundial e por infectar várias espécies animais. Inúmeros fatores podem influenciar a severidade e a natureza da infecção, os quais incluem: quantidade de inóculo do agente, status imune do hospedeiro e a cepa de *T. gondii*. Através de um estudo retrospectivo caracterizou-se os achados patológicos de cinco caninos e três felinos com toxoplasmose, e sua relação com agentes virais imunossupressores. Fatores imunossupressivos foram identificados em todos os casos. Dois gatos estavam infectados pelo FeLV, sendo que um deles também apresentava peritonite infecciosa felina (PIF). O outro felino estava sob tratamento quimioterápico para linfoma alimentar. Todos os caninos apresentavam a cinomose como comorbidade. A confirmação dos diagnósticos tanto para a toxoplasmose quanto para as doenças virais imunossupressoras foram realizados através da técnica imuno-histoquímica. As principais lesões tanto nos caninos quanto nos felinos foram: pneumonia intersticial proliferativa, hepatite, esplenite e encefalite necrótica. Houve identificação histológica e imuno-histoquímica do *T. gondii* em ambas as espécies. As estruturas parasitárias foram encontradas tanto isoladas como no interior de macrófagos, células endoteliais, pneumócitos tipo II e hepatócitos. No entanto, a identificação foi mais evidente e numerosa em felinos.

Palavras-chave: Toxoplasmose; *Toxoplasma gondii*; fatores imunossupressivos; imuno-histoquímica; histologia; gato; cão.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by Toxoplasma gondii, obligate intracellular protozoan, known for its worldwide distribution and due to its capacity of infecting several animal species. Many factors may influence the nature and severity of the infection, among which: dosage of agent in inoculum, immunologic status of the host and the strain of T. gondii. Through a retrospective study, the pathological findings of toxoplasmosis in five canines and three felines were characterized, associated with immunosuppressive effects of viral agents. Immunosuppressive factors were identified in all cases. Two cats were infected by FeLV, of which one was also infected by feline infectious peritonitis (FIP). The other cat was under chemotherapy treatment for an alimentary lymphoma. All dogs were infected by canine distemper virus as comorbidity. Definitive diagnosis for both toxoplasmosis and viral immunosuppressive diseases was obtained through immunohistochemistry exam. Main lesions in both canines and felines were characterized by proliferative pneumonia, hepatitis, splenitis and necrotic encephalitis. Histological and immunohistochemistry identification of the T. gondii was possible in both species. The parasitic structures were found both isolated and within macrophages, endothelial cells, type II pneumocytes and hepatocytes. However, they were more evident and numerous in cats.

Keyword: *Toxoplasmosis; Toxoplasma gondii; immunosuppressive factors; histology; immunohistochemistry; cat; dog.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FCoV- Coronavirus Felino

FeLV- Vírus da Leucemia Felina

FIV- Vírus da Imunodeficiência Felina

IHQ- Imunoistoquímica

PIF- Peritonite infecciosa Felina

T. gondii - *Toxoplasma gondii*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
2	MATERIAL MÉTODOS.....	12
2.1	Estudo Retrospectivo e Análises Histopatológicas.....	12
2.2	Imunoistoquímica.....	12
3	RESULTADOS.....	13
4	DISCUSSÃO.....	15
5	CONCLUSÃO.....	18
	REFERÊNCIAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário pertencente ao reino protista, filo Apicomplexa, ordem Eucoccidiida e família Sarcocystidae (NEVES et al., 2005). É um parasita intracelular obrigatório, heteroxeno facultativo, característico por sua ampla distribuição mundial e por infectar várias espécies animais incluindo mamíferos, aves e reptéis (JACOBS, 1957; TENTER et al., 2000). Estima-se que possa ser encontrado em um terço da população humana mundial (DUBEY, 2004), e em cerca de 50 à 80% de indivíduos na América do Sul (HILL; DUBEY, 2002).

Todos os felídeos são hospedeiros definitivos do *T. gondii* e responsáveis pela liberação de oocistos no ambiente. O felino doméstico, como maior produtor de oocisto, provavelmente, é a maior fonte de contaminação ambiental (HILL; DUBEY, 2002). Evidências sorológicas indicam que em torno de 9 a 46% dos gatos de estimação na América do Sul, Europa e nos EUA já sofreram exposição ao parasita em algum período da vida (TENTER et al., 2000).

Toxoplasma gondii possui três fases infecciosas, que são comuns a todos os hospedeiros: taquizoítos, bradizoítos (contidos em cistos teciduais) e os esporozoítos (contido em oocistos esporulados) e sua transmissão é similar entre todos os hospedeiros. A infecção horizontal pode ocorrer através da ingestão de alimentos e bebidas contaminadas com oocistos ou cistos teciduais infectantes. Enquanto que a transmissão vertical pode ser via transplacentária através de taquizoítos (DAVIDSON, 2000; TENTER et al., 2000).

No hospedeiro definitivo esse parasita induz ciclo sexuado e assexuado, presentes concomitantemente após infecção. Entretanto, dependendo da forma infectante ingerida podem ocorrer variações no ciclo que levam a diferenças quanto ao período pré-patente, bem como a quantidade de oocistos produzida (DUBEY, 1998; TENTER et al., 2000).

Gatos que ingerem cistos teciduais tem o ciclo induzido por bradizoítos. Essas estruturas são liberadas após a ação enzimática do hospedeiro, que dissolve a parede do cisto (BHOPALE, 2003; HILL et al., 2005). Uma parte desses bradizoítos realiza ciclo assexuado, no qual penetram na lâmina própria do intestino originando taquizoítos. Após multiplicação local, os taquizoítos são levados para outras partes do corpo através do sangue e linfa. Como última etapa, após multiplicação nas células do hospedeiro podem formar cistos teciduais (DAVIDSON, 2000; DUBEY; LINDSAY, 2006; DUBEY et al., 2009). Outros bradizoítos invadem as células epiteliais do intestino delgado, e iniciam o ciclo entero-epitelial. Nessa fase são produzidos esquizontes que originam merozoítos, liberados na forma de gametas

masculino e feminino. A reprodução sexuada desses gametas resulta em produção de oocistos, liberados através da lise dos enterócitos (DUBEY; LINDSAY, 1998, 2006; HILL et al., 2005). Quando os hospedeiros definitivos ingerem oocistos, os esporozoítos realizam multiplicações assexuadas, em uma primeira fase, originando esporozoítos que irão invadir tecidos extra intestinais formando bradizoítos. No entanto, como a ruptura desses cistos teciduais é pouco frequente, o ciclo completo ocorre apenas em alguns gatos (DUBEY, 1998; DUBEY; LINDSAY, 2006; DUBEY et al., 2009). Desta forma, menos de 50% dos gatos eliminam oocistos após ingerirem oocistos ou taquizoítos, enquanto que quase todos os gatos o fazem após a ingestão de cistos teciduais (HILL et al., 2005).

Nos hospedeiros intermediários somente a reprodução assexuada ocorre. Após a ingestão de oocistos, os esporozoítos invadem os enterócitos do intestino delgado e lamina própria, onde se convertem em taquizoíto. Posteriormente, infectam células endoteliais dos capilares, macrófagos, plasmócitos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, células do músculo liso e fibroblastos (DUBEY et al., 1998). As infecções induzidas por bradizoítos nesses hospedeiros são menos infectantes e menos patogênicas quando comparadas com as infecções induzidas por oocistos independente da dose ou cepa. Isso ocorre porque a maioria dos bradizoítos são destruídos no lume intestinal. Os bradizoítos restantes convertem-se em taquizoítos na lâmina própria do intestino delgado de onde migram para órgãos extra-intestinais (DUBEY, 1998).

Em condições laboratoriais os gatos podem eliminar até 500 milhões de oocistos, que não são esporulados em fezes frescas (HILL et al., 2005). A esporulação só ocorre após ser eliminado nas fezes e no período de 1 a 5 dias (DUBEY et al., 1970). Oocistos esporulados podem sobreviver por longos períodos sob condições ambientais mais comuns, e podem resistir por meses ou até anos em solos húmidos (HILL; DUBEY, 2002).

Os taquizoítos são pouco resistentes fora do hospedeiro, e não sobrevivem em carcaça de animais mortos. É facilmente destruído por secagem, mudanças na pressão osmótica ou exposição ao calor. Cistos também são incapaz de resistir a secagem e ao calor, entretanto, sobrevivem longos períodos em tecidos mortos e em temperaturas de refrigeração (JACOBS, 1957).

A fisiopatologia da toxoplasmose é um resultado de uma série de interações entre fatores do parasita e do hospedeiro, influenciando na dinâmica das fases infecciosas do *T. gondii* (FRENKEL, 1988). A infecção aguda inicia-se após o período de incubação da doença, no qual ocorre multiplicação parasitária no foco da inoculação. Nessa etapa, podem ocorrer diferenças referentes: a forma infecciosa ingerida, o inoculo, e o hospedeiro. A seguir inicia-

se difusão sistêmica através do sistema vascular e a invasão de células de tecidos susceptíveis em todo o organismo (JACOBS, 1957). Nessa fase da infecção o taquizoíto é predominante. Essa é a forma móvel e proliferativa do *T. gondii*, que pode multiplicar-se na maioria das células. Ele entra na célula hospedeira por penetração ativa ou fagocitose, e torna-se rodeado por um vacúolo parasitóforo que o protege de mecanismos de defesa do hospedeiro (DUBEY, 1998; DUBEY et al., 2009). O taquizoíto multiplica-se assexuadamente por divisões binárias repetidas até que haja ruptura de células hospedeiras. Quando livres, esses organismos são capazes de movimentos independentes, tornando possível a invasão de novas células. Nessa fase, caso haja gestação, podem ocorrer infecções trasplacentária e fetais. A toxoplasmose congênita em ovelhas e cabras pode levar o feto a morte (FRENKEL, 1988; DUBEY; LINDSAY, 2006). Depois de um número desconhecido de divisões e seguindo o desenvolvimento de uma resposta imunitária celular de proteção, taquizoítos dão origem aos cistos teciduais. Apesar do aparecimento de cistos também ocorrer na fase aguda, a predominância e persistência desse estágio final caracteriza as infecções crônicas pelo *T. gondii*. Essas estruturas crescem e permanecem no interior de células, e contêm de poucos a várias centenas de bradizoítos, que é a formas de multiplicação lenta desse parasito (DUBEY, 1998; DAVIDSON, 2000; DUBEY; LINDSAY, 2006). A imunidade não erradica a infecção, porém, quando intactos, os cistos teciduais, provavelmente, não causam nenhum dano e podem persistir durante a vida do hospedeiro sem causar resposta inflamatória (DUBEY et al., 1998; HILL et al., 2005). Podem ser encontrados em tecidos e órgãos viscerais, como os pulmões, fígado e rins, e mais frequentemente nos tecidos musculares e neurais, incluindo o cérebro, olho, músculo esquelético e cardíaco. Entretanto, a localização e número de cistos teciduais difere em relação ao hospedeiro e a cepa de *T. gondii* (DUBEY; LINDSAY, 2006). Acredita-se que cistos teciduais podem, eventualmente, romper-se durante a vida do hospedeiro. Diante da resposta imunológica, os bradizoítos libertos podem ser destruídos ou pode haver formação de novos cistos teciduais (HILL et al., 2005).

Vários fatores são responsáveis pela gravidade da infecção recorrente, assim como a gravidade da infecção primária. Dentre eles estão: a cepa de *T. gondii*, a dose inicial do inoculo, e o estado imunológico do hospedeiro (DAVIDSON, 2000).

A virulência do parasita e tropismo de tecidos podem ser cepa específica (BHOPALE, 2003). A patogênese da toxoplasmose é resultado direto do efeito citopático, já que *T. gondii* não produz toxinas conhecidas que possam danificar as células. Sendo assim, a necrose celular ocorre devido ao crescimento intracelular do organismo. A consequência da replicação e disseminação dos taquizoítos no organismo do hospedeiro é a morte celular, necrose

tecidual e inflamação (DAVIDSON, 2000). A imunopatologia também desempenha papel importantes em algumas lesões presentes na toxoplasmose. A hipersensibilidade tardia do tipo IV é responsável pela intensa inflamação e necrose das células não infectadas, que é observada após reativação da infecção nos hospedeiros. Enquanto que em animais com infecção recente a necrose é limitada às células infectadas (FRENKEL, 1988).

Em hospedeiros imunocompetentes a resposta imune celular protetora ocorre em um período de uma a oito semanas após a exposição primária, formando os cistos teciduais. A imunidade celular é fundamental para o controle da toxoplasmose, devido ao caráter intracelular do parasita. Já os anticorpos são responsáveis apenas pelo controle da forma proliferativa do *T. gondii*. Entretanto, apesar do desenvolvimento da imunidade limitar a evolução da infecção e o desenvolvimento de novas lesões, ela geralmente é incapaz de erradicar a infecção. No cérebro e no olho, a proliferação pode continuar mesmo após os tecidos extramurais tornarem-se imunes (FRENKEL, 1988; DAVIDSON, 2000; BHOPALE, 2003; HILL et al., 2005).

A imunossupressão é uma das causas ligadas ao desenvolvimento de um quadro clínico grave tanto na infecção primária quanto na recorrente. A imunidade é essencial para o controle da infecção, em especial a mediada por células. Doenças que interfiram nessa resposta podem predispor o hospedeiro ao desenvolvimento da toxoplasmose. O status imunitário do hospedeiro pode ser uma explicação para o fato da toxoplasmose ser mais fatal e severa em recém-nascidos ou jovens. Em cães e gatos adultos, com desenvolvimento da imunidade adequada, ela é geralmente assintomática (DAVIDSON, 2000; TENTER et al., 2000; SWINGER et al., 2009).

Nas infecções recorrentes os cistos são reativados, dando início a uma nova fase aguda com replicação de taquizoítos. Essa situação, provavelmente, é a que ocorre em gatos co-infectados com o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e o vírus da leucemia felina (FeLV) (DAVIDSON et al., 1993; DAVIDSON, 2000). Segundo Davidson et al. (1993), a infecção de gatos pelo FIV pode predispor a toxoplasmose generalizada. Em cães a toxoplasmose é muitas vezes associada com cinomose ou outras infecções, tais como erliquiose, ou com terapia com corticoides (DUBEY et al., 2009).

As manifestações clínicas são amplas e comuns a inúmeras enfermidades. Os sinais clínicos podem ser generalizados ou localizados nos sistemas respiratório, neuromuscular e gastrointestinal (DUBEY et al., 2009). As manifestações clínicas mais vistas na toxoplasmose em cães são: pneumonia, hepatite e encefalite (MORETTI et al., 2002). A doença é mais grave quando ocorre em filhotes com menos de um ano de idade. Os sinais clínicos nesses

casos tendem a ser generalizados, e é característico: febre, dispneia, diarreia e vômitos (DUBEY et al., 2009).

Nos gatos, assim como nos cães, a doença clínica é rara. A pneumonia é a manifestação clínica mais importante da toxoplasmose felina. Pode ser observado também: hepatite, necrose pancreática, miosite, miocardite, uveíte, dermatite, encefalite, enterite e infarto de linfonodos mesentéricos. A toxoplasmose clínica é mais severa em felinos infectados congenitamente (DUBEY; JONES, 2008; NEGRI et al., 2008).

As características apresentadas pelos sinais clínicos da toxoplasmose são insuficientes e não específicas para a obtenção de um diagnóstico definitivo, já que mimetizam uma ampla variedade de doenças e podem ocorrer em associação com outras comorbidades (DUBEY; LINDSAY, 2006). Para que se possa obter um diagnóstico preciso, é necessário a confirmação do agente. Para isso pode-se realizar o isolamento parasitário, e demonstração histopatológica do organismo nas lesões ou através de sorodiagnóstico (GALVÃO et al., 2014).

Na análise macroscópica das lesões, áreas necróticas são visualizadas em fígado, pulmão e rins. Baço e linfonodos podem encontrar-se aumentados e áreas hemorrágicas aparecem, por vezes, relacionadas a pleura e pulmões. Efusões peritoneais, pericárdicas e pleurais ocorrem irregularmente. Áreas pálidas podem ser observadas em musculo esquelético e coração (BROWN et al., 2007).

A histopatologia associada a técnica de imuno-histoquímica (IHQ) tem sido amplamente utilizada no diagnóstico da infecção pelo toxoplasma em amostras de espécies silvestres e domésticas (BRESCIANI et al., 2008). A IHQ é essencial para a visualização das estruturas parasitaria que podem não são vistas em focos de necrose (DUBEY et al., 1996; ABREU et al., 2001; SILVA et al., 2013).

As lesões podem variar quanto a intensidade e local, podendo abranger grande parte dos tecidos na forma generalizada. Entretanto, as lesões são bastante semelhantes entre os animais afetados. Os achados mais frequentes são: pneumonia intersticial, necrose hepática, meningoencefalite não supurativa, linfadenite e miocardite. As três primeiras lesões são bastante relacionadas a ocorrências da doença em cães e gatos (SANTOS et al., 1968; SVOBODA et al., 1988; PIMENTA et al., 1993; NAGEL et al., 2013; JOKELAINEN et al., 2012). Afecções oculares também podem ocorrer e são consideradas comuns (THOMPSON, 1993).

O objetivo desse trabalho é fazer uma caracterização patológica de caninos e felinos com toxoplasmose e pesquisar através de imuno-histoquímica a presença de agentes virais imunossupressores nesses animais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Estudo Retrospectivo e Análises Histopatológicas

Foram revisados os arquivos de exames de necropsia do Setor de Patologia Veterinária da UFRGS entre janeiro de 2006 até janeiro de 2013, em busca de casos de toxoplasmose em cães e gatos. As informações referentes a idade, alterações clínicas e doenças concomitantes, foram registradas, agrupadas e analisadas. As lâminas histológicas coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e as lesões encontradas nas duas espécies foram caracterizadas e comparadas.

2.2 Imuno-histoquímica

Os blocos de parafina referentes aos casos foram cortados em micrótomo a 3µm de espessura e aplicados à lâminas positivadas, as quais foram submetidas à técnica de imuno-histoquímica (IHQ). Realizou-se IHQ para *Toxoplasma gondii* em todos os casos. Adicionalmente em cães realizou-se IHQ para o vírus da cinomose, e em gatos IHQ para o vírus da imunodeficiência felina (FIV), vírus da leucemia felina (FeLV) e coronavírus felino (FCoV). Após a encubação em estufa, os cortes histológicos foram submetidos a desparafinização em xilol (por duas vezes durante 20 minutos), hidratação em banhos (com duração de 2 minutos) de álcoois (álcool absoluto, álcool a 95%, álcool a 80%) e lavagem em água destilada. Aplicou-se em seguida as técnicas imuno-histoquímica específicas.

Para a IHQ de *T. gondii* e FCoV foi utilizado a técnica de biotina-streptavidina ligada a peroxidase, utilizando-se de anticorpos nas respectivas diluições de 1:1000 e 1:200. A recuperação antigênica para o *T. gondii* foi em tripsina 0,1% por 10 minutos à 37 °C, seguida pela tratamento térmico em tampão citrato (pH 6). A revelação foi realizada com o cromógeno 3-amino-9-etilcarbazol (AEC). Para o FCoV a recuperação antigênica foi realizada em tampão Tris EDTA (pH 9) à 96°C por 40 minutos, e como cromógeno utilizou-se o 3,3'- diaminobenzina (DAB-Dako).

A IHQ de FIV, FeLV e vírus da cinomose foi realizada pelo método da streptavidina-biotina-fosfatase alcalina, com as diluições respectivas de 1:100, 1:500 e 1:400. A recuperação antigênica foi a temperatura de 96 °C por 40 minutos no tampão citrato (pH 6) para FIV, e no tampão Tris EDTA (pH 9) para FeLV. Já para o vírus da cinomose a recuperação antigênica foi em tampão citrato (pH 6), no calor à 96 °C por 40 minutos. As revelações foram com o cromógeno Permanent Red (DakoCytomation).

3 RESULTADOS

Dentro do período analisado, foram diagnosticados cinco cães e três gatos com toxoplasmose, cuja média de idade foi de 1,2 anos e 5,3 anos, respectivamente.

Todos os animais foram positivos na IHQ para *T. gondii*. Em relação às doenças imunossupressoras todos os cães foram positivos na IHQ para cinomose e dois felinos foram positivo para FeLV, sendo que um apresentou, ainda, PIF efusiva (positivo na IHQ para coronavírus felino). O terceiro felino não foi positivo nos exames de IHQ para agentes virais, entretanto esse felino apresentava linfoma alimentar e estava sendo submetido a tratamento quimioterápico.

Os achados macroscópicos nos caninos foram: fígado aumentado, friável e de coloração laranja entremeada por áreas vermelhas, além de esplenomegalia. Os pulmões dos felinos e dos caninos estavam aumentados, pesados e com impressões das costelas. Um felino apresentou acúmulo de líquido viscoso e claro na cavidade abdominal com acentuada aderência entre os órgãos dessa cavidade (peritonite necrótica aguda).

Adicionalmente um felino apresentou nódulos brancos nos rins, linfonodo mesentérico, além de espessamento multifocal de intestino com ulceração da mucosa, o qual histologicamente correspondia a um linfoma; o outro felino apresentou abundante quantidade de líquido denso, amarelo citrino na cavidade abdominal, com abundante quantidade de deposição de fibrina, formando micronodulações brancas em superfície dos órgãos abdominais, que histologicamente correspondia a inflamação piogranulomatosa preferencialmente perivascular (peritonite infecciosa felina efusiva).

As lesões histológicas relacionadas ao *T. gondii* (com presença do parasita na IHQ) foram constantes e similares nos felinos e caninos. Nos pulmões havia intensa proliferação de pneumócitos tipo II alveolares, com inúmeras células sinciciais, formação de membranas hialinas e infiltrado intersticial linfoplasmocitário, além de necrose de coagulação multifocal aleatória. Notou-se, frequentemente, nos espaços alveolares, aglomerados de fibrina e múltiplos macrófagos. Nos fígados havia necrose de coagulação multifocal aleatória, por vezes coalescente, associada a discreto infiltrado de neutrófilos degenerados, macrófagos e linfócitos. As paredes vasculares apresentavam degeneração fibrinoide multifocal moderada. Já nos baços observou-se acentuada necrose de tecido linfoide em polpa branca, com deposição de fibrina. No sistema nervoso central notou-se necrose multifocal aleatória, com microgliose moderada e focos de vasculite. Um felino apresentou intenso infiltrado piogranulomatoso em serosa e superfície dos órgãos abdominais.

Em todos os animais foi possível identificar, histologicamente e através de IHQ para *Toxoplasma gondii*, cistos repletos de bradizoítos e taquizoítos, encontrados isolados ou no interior de macrófagos, células endoteliais, pneumócitos tipo II e hepatócitos, entretanto esses foram mais evidentes e numerosos nos felinos.

4 DISCUSSÃO

O diagnóstico de toxoplasmose nos caninos e felinos desse estudo baseou-se nos achados patológicos associado a identificação do agente através da imuno-histoquímica. Os sinais clínicos da toxoplasmose generalizada são, geralmente, inespecíficos e comuns a diversas enfermidades, além disso a coinfeção com outros agentes podem levar a confusão quanto a origem dos sinais clínicos (DUBEY et al., 2009). Cães e gatos adultos, imunocompetentes são, geralmente, resistentes a doenças clínicas, enquanto que filhotes são mais susceptíveis (PIMENTA et al., 1993; HILL et al., 2005). No presente trabalho os caninos afetados apresentam idade média de um ano, entretanto, todos os caninos tinham cinomose como fator predisponente, enfermidade mais comumente observada em caninos jovens. A toxoplasmose clínica é mais frequente em gatos do que em cães, já que é uma doença primária de felinos (DUBEY et al., 2009). Nesse presente estudo, os caninos foram mais afetados do que os gatos, entretanto o número de cães necropsiados pelo SPV-UFRGS durante o período do estudo foi muito maior quando comparado com o de felinos.

Em todos os casos a doença apresentou-se de forma generalizada e com evolução fatal. A explicação mais provável para esse fato é de que o desfecho da infecção por *T. gondii* é resultado direto do estado imunitário do hospedeiro (DAVIDSON et al., 1993; DAVIDSON, 2000). Respostas imunológicas deficientes após infecção primária, no lugar de evoluírem para a forma crônica, levam a abundante replicação do taquizoítos e como consequência, culminam com acentuada necrose e inflamação tecidual. No caso dos animais infectados cronicamente, a queda da imunidade pode desencadear a reativação dos cistos teciduais e resultar na reagudização da infecção (LAPPIN et al., 1992; DAVIDSON, 2000; JOKELAINEN et al., 2012).

Comorbidades imunossupressoras foram observadas tanto nos cães como nos gatos. A infecção pelo vírus da cinomose estava presente em todos os caninos. Enquanto que nos felinos os fatores imunossupressores encontrados foram: infecções por PIF, por FeLV e tratamento quimioterápico para linfoma alimentar.

Apesar dos avanços já realizados no entendimento das variáveis encontradas na infecção pelo *Toxoplasma gondii*, ainda não se compreende bem todos os fatores envolvidos, e que levam o desenvolvimento da doença clínica somente em alguns animais (DAVIDSON, 2000).

Toxoplasma gondii possui ampla distribuição mundial, e no Brasil estima-se que uma grande quantidade de cães e gatos já foram expostos (DUBEY et al., 2012). O

desenvolvimento da doença clínica não ocorre em todos esses animais porque, como anteriormente citado, o sistema imune controla a proliferação do parasita na maioria dos casos (BHOPALE, 2003; HILL et al., 2005).

Devido à natureza intracelular do *Toxoplasma gondii*, a resposta imunitária mais eficaz contra o parasita é aquela mediada por células. Anticorpos atuam apenas para as formas extracelulares do parasita. Dessa forma, fatores que afetem a imunidade mediada por células podem predispor ao desenvolvimento de toxoplasmose. Provavelmente, por esse motivo os casos mais severos incluem animais com déficits imunitário, em especial àquele que envolve a imunidade celular (FRENKEL, 1988; LAPPIN et al., 1989; DAVIDSON, 2000; BHOPALE, 2003; HILL et al., 2005). Em animais primo-infectados pelo *Toxoplasma gondii*, pode ocorrer ainda uma imunossupressão adicional, que é característica da fase aguda desse parasito (DIEZ et al., 1989).

A severidade da toxoplasmose encontrada nos cães, pode estar relacionada a dois aspectos importantes: idade e a coinfeção com a cinomose. A toxoplasmose clínica é mais severa em jovens (DUBEY; LINDSAY, 2006). A cinomose é uma doença de caráter imunossupressor importante, e geralmente associada é associada a toxoplasmose clínica em cães (CAPEN; COLE, 1966; DAVIDSON et al., 1993; PIMENTA et al., 1993; THOMPSON, 1993). Em inúmeros estudos a cinomose foi apontada no envolvimento da toxoplasmose clínica, sendo encontrada nos mais variados percentuais que foram desde 5.9% a 40% dos casos (CAMPBELL et al., 1958; CAPEN; COLE, 1966).

Gatos infectados por FeLV, tendem a desenvolver infecções mais severas quando infectados por *T. gondii* (LAPPIN et al. 1992). O mesmo ocorre em felinos com PIF, e pode também atuar como agente em prováveis reativações de cistos teciduais. A PIF é frequentemente associada com linfopenia, achado indicativo de imunossupressão (PEDERSEN, 2009).

As lesões histológicas encontradas em cães e gatos foram semelhantes entre si e compatíveis com as mencionadas na literatura. Os achados microscópicos mais frequentes em animais com lesão disseminadas, assim como os encontrados nesse estudo foram: pneumonia intersticiais e hepatite necrótica (LANGHAM; SHOLL, 1948; SANTOS et al., 1968; HENRIKSEN et al., 1994; SVOBODA et al., 1988; PIMENTA et al., 1993; JOKELAINEN et al., 2012; NAGEL et al., 2013). Nos felinos foram encontradas mais estruturas parasitárias em relação aos caninos. A presença de cistos teciduais em concomitância com taquizoítos, podem ser indicadores de recrudescimento de uma infecção crônica (HENRIKSEN et al., 1994).

As estruturas parasitárias podem não ser evidentes em coloração de hematoxilina e eosina (HE), de maneira que a contagem torna-se subestimada. Dessa forma a IHQ foi essencial para de a visualização e análise do *Toxoplasma gondii* nos tecidos afetados (DUBEY et al., 1996; ABREU et al., 2001; SILVA et al., 2013). Além disso ela é essencial para confirmar o *T. gondii*, no caso dos cães. Deve-se considerar o diagnóstico diferencial de *Neospora canium*, quando os caninos apresentam distúrbios respiratórios, neuromusculares e gastrintestinais (DUBEY; LINDSAY, 1990; GIRALDI et al., 2002; BOTTARI et al., 2014)

A cepa do *T. gondii* envolvido nos casos não foi pesquisada. Sabe-se que existe mais do que uma cepa de *T. gondii* com diferença de virulência entre isolados da natureza. (FULTON, 1967; BHOPALE, 2003; DUBEY; JONES, 2008). Cepas virulentas de *T. gondii* foram isoladas em cães no Brasil, que apresentavam quadros clínicos neurológicos, e geralmente estavam associadas a cinomose e erliquiose. Entretanto, acredita-se que a maioria das mostras de *T. gondii* provenientes de animais representem infecções crônicas e subclínicas (LEAL; COELHO, 2014).

5 CONCLUSÃO

As principais lesões tanto em caninos, quanto em felinos com toxoplasmose foram: pneumonia intersticial proliferativa, hepatite, esplenite e encefalite necrótica.

Apesar da diferença de espécie, cães e gatos apresentaram lesões histológicas bastante similares. Uma das poucas diferenças encontradas foi em relação a quantidade de estruturas parasitária, que foi maior nos felinos.

FelV foi detectado em dois felinos, entretanto um deles apresentava diagnóstico simultâneo de PIF. O outro gato, apesar da negatividade em IHQ para os agentes virais estava em tratamento quimioterápico para linfoma alimentar, e esse foi o fator imunossupressor para esse animal.

A cinomose foi diagnosticada em todos os caninos com toxoplasmose nesse estudo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. B. et al. Aspectos clínicos, patológicos e sorológicos da toxoplasmose experimental em cães jovens. **Sem. Ci. Agr.**, Londrina, v. 22, n. 2, p.123-130, mai. 2001. Universidade Estadual de Londrina. DOI: 10.5433/1679-0359.2001v22n2p123.
- BHOPALE, G. M. Pathogenesis of toxoplasmosis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [S.l.], v. 26, n. 4, p.213-222, jul. 2003. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0147-9571(02)00058-9.
- BOTTARI, N. B. et al. Neospora caninum and *Toxoplasma gondii*: Relationship between hepatic lesions, cytological and biochemical analysis of the cavitory liquid during the acute phase of the diseases in experimental models. **Experimental Parasitology**, [S.l.], v. 136, p.68-73, jan. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.exppara.2013.11.004.
- BRESCIANI, K. D. S. et al. Toxoplasmose canina: aspectos clínicos e patológicos. **Sem. Ci. Agr.**, [S.l.], v. 29, n. 1, p.189-201, 30 ago. 2008. Universidade Estadual de Londrina. DOI: 10.5433/1679-0359.2008v29n1p189.
- BROWN, C.C.; BAKER D.C.; BARKER I.K. Alimentary system. In: Maxie M.G. (Ed.), **Jubb, Kennedy & Palmers Pathology of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 2007. v. 2, cap.1, p 1119- 1121.
- CAPEN, C. C.; COLE, C. R. Pulmonary Lesions in Dogs with Experimental and Naturally Occurring Toxoplasmosis. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 3, n. 1, p.40-63, 1 jan. 1966. SAGE Publications. DOI: 10.1177/030098586600300103.
- CAMPBELL, R. S. F.; MACKAY, J. M. K.; VANTSIS, J.T. Canine Toxoplasmosis the Isolation of *Toxoplasma gondii* from a Dog. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, [S.l.], v. 68, p.96-105, jan. 1958. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0368-1742(58)80010-7.
- DAVIDSON, M. G. et al. Feline Immunodeficiency Virus Predisposes Cats to Acute Generalized Toxoplasmosis. **American Journal of Pathology**, [S. l.], v. 143, n. 5, p.1486-1497, nov. 1993.
- DAVIDSON, M. G. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, [S.l.], v. 30, n. 5, p.1051-1062, set. 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0195-5616(00)05006-3.

DIEZ, B. et al. Relationship between the production of interferon-alpha/beta and interferon-gamma during acute toxoplasmosis. **Parasitology**, [S.l.], v. 99, n. 01, p.11-15, ago. 1989. Cambridge University Press (CUP). DOI: 10.1017/s0031182000060972.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis in dogs. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 36, n. 1-2, p.147-151, maio 1990. Elsevier BV. DOI: 10.1016/0304-4017(90)90103-i.

DUBEY, J. P.; MATTIX, M. E.; LIPSCOMB, T. P. Lesions of Neonatally Induced Toxoplasmosis in Cats. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 33, n. 3, p.290-295, 1 maio 1996. SAGE Publications. DOI: 10.1177/030098589603300305.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 11, n. 2, p.267-299, abr. 1998.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 28, n. 7, p.1019-1024, jul. 1998. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0020-7519(98)00023-x.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 126, n. 1-2, p.57-72, dez. 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.09.005.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.l.], v. 22, n. 3, p.645-671, nov. 2006. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.cvfa.2006.08.001.

DUBEY, J. P.; JONES, J. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 38, n. 11, p.1257-1278, set. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijpara.2008.03.007.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.l.], v. 39, n. 6, p.1009-1034, nov. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.cvsm.2009.08.001

DUBEY, J. P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, [S.l.], v. 139, n. 11, p.1375-1424, 10 jul. 2012. Cambridge University Press (CUP). DOI: 10.1017/s0031182012000765.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in Cats: Fecal Stages Identified as Coccidian Oocysts. **Science**, [S.l.], v. 167, n. 3919, p.893-896, 6 fev. 1970. American Association for the Advancement of Science (AAAS). DOI: 10.1126/science.167.3919.893.

FRENKEL, J. K. Pathophysiology of toxoplasmosis. **Parasitology Today**, [S.l.], v. 4, n. 10, p.273-278, out. 1988. Elsevier BV. DOI: 10.1016/0169-4758(88)90018-x.

FULTON, J. D. Toxoplasmosis. **Laboratory Animals**, [S.l.], v. 1, n. 1, p.7-16, 1 abr. 1967. SAGE Publications. DOI: 10.1258/002367767781006785.

GALVÃO, A. L. B. et al. Aspectos da toxoplasmose na clínica de pequenos animais. **Sem. Ci. Agr.**, [S.l.], v. 35, n. 1, p.393-409, 27 fev. 2014. Universidade Estadual de Londrina. DOI: 10.5433/1679-0359.2014v35n1p393.

GIRALDI, J. H. et al. Sorologia e histopatologia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães portadores de distúrbios neurológicos. **Sem. Ci. Agr.**, [S.l.], v. 23, n. 1, p.9-14, 3 mar. 2002. Universidade Estadual de Londrina. DOI: 10.5433/1679-0359.2002v23n1p9.

HENRIKSEN, P. et al. Fatal toxoplasmosis in five cats. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 55, n. 1-2, p.15-20, out. 1994. Elsevier BV. DOI: 10.1016/0304-4017(94)90052-3.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, [S.l.], v. 8, n. 10, p.634-640, out. 2002. Elsevier BV. DOI: 10.1046/j.1469-0691.2002.00485.x.

HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Anim. Health. Res. Rev.**, [S.l.], v. 6, n. 01, p.41-61, jun. 2005. Cambridge University Press (CUP). DOI: 10.1079/ahr2005100.

JACOBS, L. The Interrelation of Toxoplasmosis in Swine, Cattle, Dogs, and Man. **Public Health Reports (1896-1970)**, [S.l.], v. 72, n. 10, p.872-882, 1957. JSTOR. DOI: 10.2307/4589927.

JOKELAINEN, P. et al. Feline toxoplasmosis in Finland: cross-sectional epidemiological study and case series study. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S.l.], v. 24, n. 6, p.1115-1124, 25 set. 2012. SAGE Publications. DOI: 10.1177/1040638712461787.

LANGHAM, R. F.; SHOLL, L. B. CANINE TOXOPLASMOSIS. **American Journal of Pathology**, [S.l.], v. 25, n. 3, p.569-573, 18 jun. 1948.

LAPPIN, R. et al. Clinical Feline Toxoplasmosis: Serologic Diagnosis and Therapeutic Management of 15 Cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 3, n. 3, p.139-143, jul. 1989. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1989.tb03089.x.

LAPPIN, M. R. et al. Effect of primary phase feline immunodeficiency virus infection on cats with chronic toxoplasmosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v. 35, n. 1-2, p.121-131, dez. 1992. Elsevier BV. DOI: 10.1016/0165-2427(92)90125-a.

LEAL, P. D. S.; COELHO, C. D. Toxoplasmose em cães: uma breve revisão. **Coccidia**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p.2-39, 2014.

MORETTI, L. D. et al. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. **Sem. Ci. Agr.**, [S.l.], v. 23, n. 1, p.85-91, 3 mar. 2002. Universidade Estadual de Londrina. DOI: 10.5433/1679-0359.2002v23n1p85.

NAGEL, S. S.; WILLIAMS, J. H.; SCHOEMAN, J. P. Fatal disseminated toxoplasmosis in an immunocompetent cat. **Journal of The South African Veterinary Association**, [S.l.], v. 84, n. 1, p.1-6, 12 fev. 2013. AOSIS Open Journals. DOI: 10.4102/jsava.v84i1.299.

NEGRI, D. et al. TOXOPLASMOSE EM CÃES E GATOS. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 6, n. 11, p.1-7, jul. 2008. Semestral.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M. Parasitologia Humana. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494 p.

PEDERSEN, N. C. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, [S.l.], v. 11, n. 4, p.225-258, abr. 2009. SAGE Publications. DOI: 10.1016/j.jfms.2008.09.008.

PIMENTA, A. L. et al. Visceral toxoplasmosis in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 45, n. 3-4, p.323-326, jan. 1993. Elsevier BV. DOI: 10.1016/0304-4017(93)90086-3.

SANTOS, J. A. et al. Estudos sobre a incidência e as lesões histopatológicas da toxoplasmose em mamíferos domésticos (cães e coelhos) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 3, p.275-283, 1968.

SILVA, A. F. et al. Immunohistochemical identification of *Toxoplasma gondii* in tissues from Modified Agglutination Test positive sheep. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 191, n. 3-4, p.347-352, jan. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.09.022

SVOBODA, M. et al. Postmortal Diagnosis of Toxoplasmosis in Cats and Dogs. **Acta Veterinaria Brno**, [S.l.], v. 57, n. 1-2, p.31-38, 1988. University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences. DOI: 10.2754/avb198857010031.

SWINGER, R. L.; SCHMIDT JUNIOR, K. A.; DUBIELZIG, R. R. Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. **Veterinary Ophthalmology**, [S.l.], v. 12, n. 1, p.56-60, jan. 2009. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2009.00675.x.

TENTER, A. M; HECKEROTH, A. R; WEISS, Louis M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 30, n. 12-13, p.1217-1258, nov. 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0020-7519(00)00124-7.

THOMPSON, J. Toxoplasmosis in dogs and cats in New Zealand. **Surveillance**, [S.l.], v. 20, n. 3, p.36-38, jan. 1993.