

TOXOPLASMOSE SUÍNA. 1. INOCULAÇÃO EXPERIMENTAL COM TAQUIZOÍTOS DE *TOXOPLASMA GONDII* POR VIA INTRAPERITONEAL. EVOLUÇÃO DE ANTICORPOS REVELADOS PELAS PROVAS DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA E HEMAGLUTINAÇÃO¹

J. L. D'Angelino² e M. M. Ishizuka³

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* apresenta algumas características epidemiológicas peculiares. Assim, sua distribuição é cosmopolita e não manifesta especificidade de hospedeiro para parasitar.

Do ponto de vista de saúde pública, a espécie suína parece representar uma das principais fontes de infecção,

notadamente para populações humanas que ingerem carne crua ou insuficientemente submetida ao calor (1-5). Neste sentido, existem vários pesquisadores interessados em estudar o efeito da inoculação experimental do *T. gondii* em animais da espécie suína. A administração oral a suínos adultos com ratos previamente inoculados com a cepa Beverley revelou que, mesmo na ausência de sintomatologia a prova de hemaglutinação e o teste cutâneo resultaram positivos, respectivamente, 15 e 30 dias após a infecção (6).

Numa experiência em que um grupo de leitões inoculados com oocistos de *T. gondii* em diferentes concentrações ($1,7 \times 10^2$; $1,7 \times 10^4$; $1,7 \times 10^3$ e $1,7 \times 10^2$) foi colocado em contato com outro grupo de leitões não inoculados, todos os animais adoeceram entre os dias 0, 3 e 7 da inoculação e morreram entre o dia 9 e o dia 14 (7).

¹ Este é o primeiro de uma série de três artigos a serem publicados, em 1986, no *Boletim de la Oficina Sanitaria Panamericana*. O segundo, que apresenta um estudo comparativo das provas de imunofluorescência indireta e de hemaglutinação para comprovar a existência de anticorpos contra *Toxoplasma* em soros suínos, será publicado no Vol. 100, No. 5. O terceiro, que calcula a prevalência da infecção toxoplásmica em suínos pelas provas de imunofluorescência indireta e de hemaglutinação, será publicado no Vol. 100, No. 6.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica Médica, São Paulo, Brasil.

³ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo.

Uma cepa cistogênica de *T. gondii*, obtida em camundongos e inoculada em suínos, revelou que a mesma era patogênica e virulenta para estes, sem a formação de cistos (8), porém, não conseguiu provocar a doença em suínos infectados com cistos (9), mas demonstrou a presença do parasita na circulação sanguínea a partir do dia 11 da inoculação.

A avaliação da presença do protozoário em suínos tem-se baseado no seu isolamento a partir de fragmentos de órgãos de animais suspeitos (4, 10-15). O isolamento consiste na inoculação do material, convenientemente tratado, em camundongos albinos e na avaliação clínica destes por um período de três a quatro semanas. Tal metodologia é, sem dúvida, pouco prática por ser prolongada, tornando-a, muitas vezes, inviável.

Neste estudo, fragmentos de carne verde provenientes de dezoito suínos reagentes à prova de Sabin-Feldman foram administrados a camundongos, conseguindo-se o isolamento do parasito em 81% dos casos, quando avaliados pela soro-conversão e visualização de cistos nos cérebros dos camundongos inoculados (16). Além desses achados terem sido anteriormente confirmados (4), acrescenta-se o fato de que as possibilidades de isolamento do *T. gondii* em camundongos são maiores quanto mais elevados forem os títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma* no suíno infectado. Outros pesquisadores (17-18), que conseguiram também o isolamento do *T. gondii* a partir de suínos que apresentaram resultados da prova de Sabin-Feldman tão baixos quanto 1:10 e que não isolaram os protozoários a partir de suínos negativos ao mesmo teste, obtiveram resultados semelhantes.

Diversas provas imunológicas têm sido utilizadas na avaliação de infecção toxoplásmica, detectando-se as

reações de hemaglutinação (HA) e a de imunofluorescência indireta (IFI).

A reação de imunofluorescência indireta revela anticorpos de fração IgM ou IgG das imunoglobulinas, bastando para tanto substituir-se o respectivo conjugado anti-gamaglobulina (19, 20). A IFI-IgG evidencia anticorpos dirigidos para os antígenos de superfície do *T. gondii* (21, 22), enquanto que a reação de HA revela anticorpos relacionados aos constituintes citoplasmáticos de origem protéica e que são bastante solúveis (19, 21-25).

Devido à natureza do antígeno do *T. gondii*, a reação de HA reage mais tardiamente na evolução da infecção, enquanto que a IFI fornece os resultados mais precocemente, ao redor da segunda semana de infecção. Os títulos de anticorpos evidenciados pela HA mantêm-se por longo tempo, à semelhança dos títulos revelados pela reação de IFI-IgG que persistem indefinidamente, mesmo em níveis baixos (19, 20, 22, 24-27).

Assim sendo, não encontrando na literatura trabalhos utilizando a forma infectante em taquizoítos do *T. gondii*, em inoculação experimental em suínos, e procurando ainda informações auxiliares para a interpretação das provas de imunofluorescência indireta e hemaglutinação, idealizou-se a presente pesquisa para estudar o efeito da inoculação experimental de suínos, acompanhando-se a dinâmica de evolução dos anticorpos revelados por essas mesmas provas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizaram-se 27 animais da espécie suína, com aproximadamente 180 dias de idade, e pesos variando de 60 a 80 kg, de diversas raças (Duroc, Landrace e Large White). Os suínos foram considerados clinicamente saudáveis, sem alterações hematológicas, com exames parasitológicos negativos e livres de anticorpos anti-*Toxoplasma*, segundo os resultados das provas de IFI e HA.

A cepa de *T. gondii*, na forma infectante de taquizoíto, utilizada na inoculação dos animais, proveio da Seção de Parasitologia Animal do Instituto Biológico da Secretaria de Negócios da Agricultura do Estado de São Paulo, tendo sido isolada a partir de suínos de matadouro e mantida no laboratório da instituição por passagens em camundongos albinos, por inoculações a cada quatro dias (13).

Os suínos foram dispostos, de forma aleatória, em três grupos:

- Grupo 1 Composto de 10 animais (sete machos e três fêmeas), sendo cada animal inoculado com 1,0 ml da suspensão de *T. gondii* (aproximadamente $2,5 \times 10^6$ de taquizoítos) por via intraperitoneal.
- Grupo 2 Constituído por 10 animais (sete machos e três fêmeas), inoculados por via intraperitoneal com 2,0 ml da suspensão de *T. gondii* (aproximadamente $5,0 \times 10^6$ de taquizoítos).
- Grupo 3 Constituído por sete animais (quatro machos e três fêmeas), mantidos como controle e sem inoculação.

As amostras de sangue de todos os animais foram colhidas em tubos de centrifuga, por punção das veias cava

anterior (28), imediatamente antes do momento da inoculação e decorridos 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 42, 56 e 84 dias após a referida inoculação. Os soros foram separados e devidamente acondicionados a -20°C .

Para a prova de hemaglutinação as amostras foram colhidas em papel de filtro próprio, chamado papel de Nobuto (2), até a absorção total da área correspondente, que, no laboratório, eram secos e depois guardados em congelador até o momento do uso.

A prova de imunofluorescência indireta, foi realizada segundo a técnica descrita por Camargo (29) e adaptada para a espécie suína por Ishizuka (30).

A prova de hemaglutinação foi realizada empregando-se antígeno liofilizado, segundo técnica adaptada para a espécie suína por Hanaki *et al.* (31), a partir da técnica original de Jacobs e Lunde (32), utilizando pipetas e placas para microtitulação.

RESULTADOS

Os resultados da inoculação experimental podem ser visualizados nas tabelas 1, 2 e 3. Todos os animais inoculados com a amostra da cepa "A" de *T. gondii*, na forma infectante de taquizoítos, responderam ao estímulo antigênico produzindo anticorpos detectáveis pelas provas de IFI e HA.

Por outro lado, os animais do grupo 3, que se constituíram nos testemunhos deste experimento, permaneceram negativos às duas provas durante toda a fase de observação.

No dia 7 após a inoculação, 14 (74,0%) e quatro (21,0%) dos animais inoculados foram reagentes, respectiva-

mente, às provas de IFI e HA. Cabe ressaltar que os quatro animais reagentes à prova de hemaglutinação eram do grupo 2, que recebeu maior dose infectante. Ambas as reações tornaram-se positivas em todos os animais infectados decorridos 10 dias da inoculação e assim permanecendo durante todo o período do experimento (tabelas 1, 2 e 3).

Para uma melhor visualização, as figuras 1, 2 e 3 apresentam a evolução dos anticorpos revelados pelas duas provas empregadas no presente experimento, sendo os dois primeiros baseados nas medianas dos títulos de anticorpos dos animais dos grupos 1 e 2 e o último apresentando as medianas dos títulos de todos os animais inoculados.

Na figura 1, verifica-se a ascensão dos níveis de anticorpos frente às provas de IFI e HA dos animais do grupo 1 (inoculados com $2,5 \times 10^6$ taquizoítos), tendo a primeira prova revelado a presença de anticorpos na primeira semana pós-inoculação, atingindo o nível máxi-

mo no dia 10 e assim permanecendo nas 12 semanas subsequentes (84 dias). Os anticorpos hemaglutinantes, surgiram a partir do sétimo dia, alcançando um título no dia 14, permanecendo estacionário até o dia 28 (quarta semana), surgindo nova ascensão até o dia 35 (quinta semana), permanecendo num platô até o dia 42 (sexta semana), declinando posteriormente até zero no dia 49 (sétima semana) e daí permanecendo estável até o final da observação.

Na figura 3, estão representadas as medianas dos títulos dos dois grupos anteriores. Pode-se verificar que a prova de imunofluorescência indireta detectou anticorpos mais precocemente do que a prova de hemaglutinação, pois observou-se ascensão dos títulos na primeira semana, atingindo um título alto (1 024) no dia 7, com valor máximo (título de

TABELA 1. Suínos reagentes e não reagentes às provas de imunofluorescência indireta e hemaglutinação, antes e após a inoculação com *Toxoplasma gondii*, na forma infectante de taquizoítos, São Paulo, 1983.

Tempo (dias)	Prova de imunofluorescência indireta				Prova de hemaglutinação			
	Reagentes	Não reagentes	Total	Reagentes %	Reagentes	Não reagentes	Total	Reagentes %
0	0	20	20	0	0	20	20	0
3	0	20	20	0	0	20	20	0
7	14	5	19 ^a	74	4	15	19 ^a	21
10	19	0	19	100	19	0	19	100
14	19	0	19	100	19	0	19	100
17	19	0	19	100	19	0	19	100
21	19	0	19	100	19	0	19	100
24	19	0	19	100	19	0	19	100
28	19	0	19	100	19	0	19	100
31	19	0	19	100	19	0	19	100
35	19	0	19	100	19	0	19	100
42	19	0	19	100	19	0	19	100
49	19	0	19	100	19	0	19	100
56	19	0	19	100	19	0	19	100
84	19	0	19	100	19	0	19	100

^a Morte de um animal durante o experimento.

TABELA 2. Evolução dos títulos de anticorpos medidos pela prova de imunofluorescência indireta em suínos inoculados com $2,5 \times 10^6$ e $5,0 \times 10^6$ taquizoítos (respectivamente grupos 1 e 2), São Paulo, 1983.

Animal No.	Tempo (dias)														
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	42	49	56	84
<i>Grupo 1</i>															
1	—	—	256	256	256	256	256	256	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	256
2	—	—	—	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	256
3	—	—	64	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	256
4	—	—	64	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024
5	—	—	256	1 024	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024
6	—	—	^a												
7	—	—	64	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024
8	—	—	—	64	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024
9	—	—	64	256	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024
10	—	—	64	256	256	1 024	1 024	1 024	1 024	256	256	256	256	256	256
<i>Grupo 2</i>															
1	—	—	64	256	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024
2	—	—	64	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024
3	—	—	16	64	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	256	256	256	256	256
4	—	—	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	256	256	256
5	—	—	—	64	256	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	64	64	64
6	—	—	—	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024
7	—	—	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	256	256	256	256
8	—	—	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024
9	—	—	—	1 024	1 024	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024	1 024	256	256	256	256
10	—	—	256	1 024	1 024	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024

^a Óbito durante o experimento.

4 096) no dia 21, decrescendo para um título igual a 1 024 que permaneceu até o final. A reação de hemaglutinação iniciou a ascensão na segunda semana, atingindo título igual a 256 no dia 10, estabilizando-se até o dia 28, para sofrer nova elevação entre os dias 35 e 42 (quinta e sexta semanas pós-inoculação), declinando e estabilizando-se novamente a partir do dia 49, com um título de 256 até o final do experimento.

Pela observação da figura 3 verifica-se que a primeira resposta imunitária máxima ocorreu por volta do dia 10 após a inoculação. Adotando-se este momento como critério para o cálculo da sensibilidade e especificidade das provas de IFI e HA, pode-se verificar que esses

dois valores valem 100%, visto que todos os animais infectados responderam ao estímulo imunogênico e nenhum dos não inoculados respondeu com elaboração de anticorpos (tabelas 1, 2 e 3).

DISCUSSÃO

A soroconversão ou o aumento gradativo dos títulos, em duas amostras de soros coletados com intervalos de uma a duas semanas, considerados requisitos básicos para se confirmar o diagnóstico da toxoplasmose, com ou sem sintomatologia clínica, foram observados nos animais dos grupos 1 e 2, inoculados com a forma infectante de ta-

TABELA 3. Evolução dos títulos de anticorpos medidos pela prova de hemaglutinação em suínos inoculados com $2,5 \times 10^6$ e $5,0 \times 10^6$ taquizoítos (respectivamente grupos 1 e 2), São Paulo, 1983.

Animal No.	Tempo (dias)														
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	42	49	56	84
<i>Grupo 1</i>															
1	—	—	—	64	64	64	64	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
2	—	—	—	64	64	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
3	—	—	—	64	64	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
4	—	—	—	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
5	—	—	—	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
6	—	—	a												
7	—	—	—	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	256	256	256
8	—	—	—	64	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	256	256	256
9	—	—	—	64	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	1 024	1 024	1 024
10	—	—	—	64	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
<i>Grupo 2</i>															
1	—	—	—	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	1 024	1 024	256
2	—	—	—	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
3	—	—	—	64	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
4	—	—	64	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
5	—	—	—	64	64	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	64	64	64
6	—	—	—	256	1 024	1 024	1 024	1 024	1 024	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096	4 096
7	—	—	64	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
8	—	—	64	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
9	—	—	—	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256
10	—	—	64	256	256	256	256	256	256	1 024	4 096	4 096	256	256	256

^a Óbito durante o experimento.

FIGURA 1. Mediana dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de suínos inoculados com a forma infectante de taquizoítos ($2,5 \times 10^6$), segundo as provas de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação (HA) e tempo decorrido da inoculação, São Paulo, 1983.

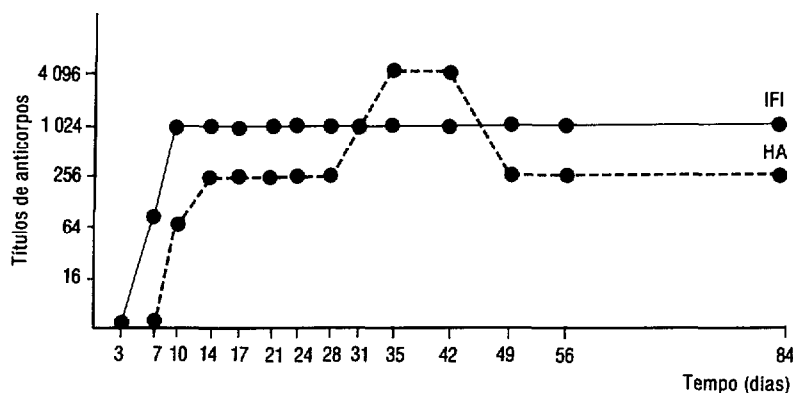


FIGURA 2. Mediana dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de suínos inoculados com $5,0 \times 10^6$ taquizoítos (animais do grupo 2), segundo as provas de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação (HA) e tempo decorrido da inoculação, São Paulo, 1983.

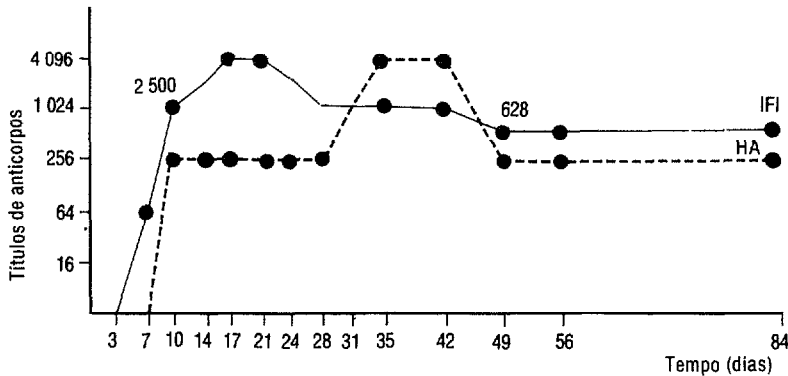
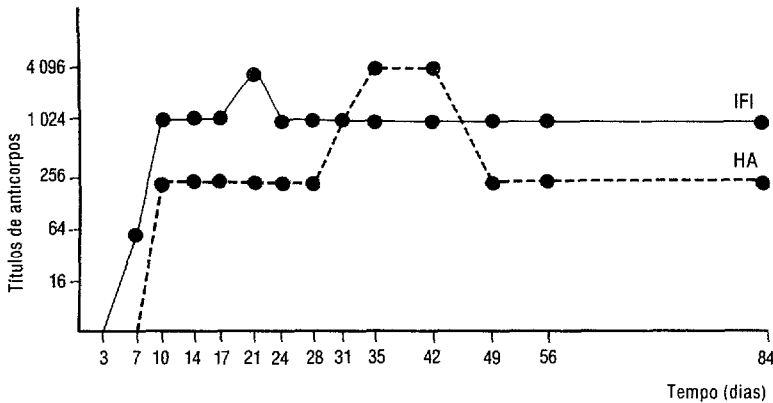


FIGURA 3. Mediana dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de suínos inoculados com $2,5 \times 10^6$ e $5,0 \times 10^6$ taquizoítos (animais dos grupos 1 e 2), segundo as provas de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação (HA) e tempo decorrido da inoculação, São Paulo, 1983.



quizoítos do *T. gondii*. Fez exceção o suíno que morreu no dia 4 do experimento, com quadro clínico típico da doença: febre alta, dispnéia, secreção ocular, cianose do pavilhão auricular e da face interna das coxas e incoordenação, sem chegar, no entanto, a ter resposta sorológica positiva.

A resposta imunitária foi rápida, observando-se anticorpos humorais revelados pelas reações de imunofluores-

cência indireta e hemaglutinação, no decorrer da primeira semana da inoculação experimental, na proporção de 74,0% pela primeira prova e 21,0% pela segunda. A positividade total (100%) foi alcançada por ambas as provas no décimo dia após a inoculação. Este fato deve ser ressaltado, pois ambas as provas podem

ser consideradas de alta sensibilidade e especificidade, uma vez que todos os animais inoculados apresentaram reação e os não inoculados permaneceram negativos até o final da observação.

Existe alguma controvérsia em relação ao aparecimento dos anticorpos revelados pelas provas de IFI e HA. De maneira geral, no entanto, os autores concordam que a hemaglutinação é de positividade mais tardia em relação à primeira prova. Isto se justifica pela própria natureza do antígeno, pois a imunofluorescência indireta detecta anticorpos produzidos por antígenos de superfície do *T. gondii*, enquanto que a hemaglutinação se refere a antígenos citoplasmáticos. Os resultados verificados no presente experimento reforçam essas afirmações, pois a prova de IFI se mostrou ligeiramente mais precoce, havendo o aparecimento de anticorpos antes do sétimo dia após a inoculação, enquanto que na HA esse fato se deu posteriormente, de acordo, portanto, com outras pesquisas (19, 20, 22, 24-27).

No que se refere ao período em que há o aparecimento dos títulos de anticorpos, os resultados deste trabalho apresentam discordância em relação a outros estudos (24, 26), ao relatarem que os títulos revelados pela IFI ascendem ao redor do dia 8 ou do dia 10 pós-infecção e pela HA, após o dia 14.

O fato da maior precocidade em relação aos resultados desta pesquisa se deve, provavelmente, à forma infectante usada para a inoculação experimental, pois a utilização de taquizoítos, considerados de forma livre, causa uma disseminação mais rápida no organismo animal.

Quanto à curva dos títulos de anticorpos, analisando os resultados deste trabalho, verifica-se que a reação de IFI atingiu o pico ao redor das segunda e terceira semanas pós-inoculação, sendo que a HA alcançou, inicialmente, títulos

médios nas segunda e terceira semanas e os títulos mais altos se verificaram ao redor das quinta e sétima semanas, discordando, pois, de outras pesquisas (19, 20, 24, 26), que revelaram títulos mais altos para ambas as provas ao redor das terceira e quarta semanas.

Relativamente à inoculação experimental, os resultados deste trabalho não são comparáveis em sua totalidade aos obtidos por outros autores (6-9) que também realizaram inoculações experimentais, mas com objetivos diversos. Além disso, destaque-se que esses autores utilizaram formas infectantes diferentes, ou seja, cistos e oocistos. No entanto, existe uma observação (6) que merece ser discutida pois diz que, no animal inoculado, a prova de HA tornou-se positiva no dia 15, enquanto que todos os animais deste experimento tornaram-se positivos 10 dias após a inoculação.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através da metodologia empregada permitem chegar às seguintes conclusões:

1 A prova de IFI mostrou-se mais precoce em relação aos animais reagentes na fase inicial da infecção, porque nesta prova puderam ser observados anticorpos em 74,0% dos suínos após o sétimo dia da inoculação, enquanto que na prova de HA detectaram-se, no mesmo período, anticorpos em 21,0% desses animais.

2 Adotando-se o décimo dia pós-inoculação como critério para cálculo da sensibilidade e especificidade das provas de IFI e HA, verifica-se que ambas valem 100%.

3 Os anticorpos revelados pelas provas de IFI e HA persistiram durante todo o período de observação (84 dias) com a primeira prova revelando títulos mais altos.

RESUMO

O objetivo deste artigo é acompanhar a dinâmica da evolução dos anticorpos comprovados pelas provas de imunofluorescência indireta (IFI) e de hemaglutinação (HA). Realizou-se o trabalho com 27 suínos. Experimentalmente inocularam-se 20 suínos com a forma infectante de taquizoítos de *Toxoplasma gondii* deixando-se, sem inoculação, sete suínos para serem o grupo de controle. Os animais foram observados durante 84 dias (12 semanas). No sétimo dia após a inoculação comprovou-se, por IFI, a existência de anticorpos em 74,0% dos suínos e, por HA, em 21,0%. Os anticorpos persistiram durante todo o período de observação, sendo que os títulos mais altos se apresentaram pela prova de IFI. Ambas as provas demonstraram 100% de especificidade e sensibilidade a partir do décimo dia, quando todos os suínos revelaram anticorpos, enquanto que os suínos do grupo de controle permaneceram negativos durante todo o experimento. □

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Vicente Amaral da Seção de Parasitologia Animal do Instituto Biológico de São Paulo, por ter cedido a cepa de *Toxoplasma gondii* utilizada na inoculação dos suínos. Ao Laboratório Daiichi-Seyaku Co., do Japão, por ter gentilmente cedido o papel de filtro de Nobuto e o antígeno liofilizado utilizados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- 1 Desmonts, G. Epidemiologie de la toxoplasmose. *Rev Hyg Med Soc* 10:201-17, 1962.
- 2 Katsube, Y., Hagiwara, T., Ueda, K., Miyakawa, H., Imaizumi, K., Hanaki, T. e Nobuto, K. Studies on Toxoplasmosis-I. Isolation of *Toxoplasma* from muscles of humans, dogs and cats. *Jpn J Med Sci Biol* 20:413-9, 1967.
- 3 Feldman, H. Toxoplasmosis. *New Engl J Med* 279:1431-7, 1968.
- 4 Cătăr, G., Bergendi, L. e Holková, R. Isolation of *Toxoplasma gondii* from swine and caule. *J Parasitol* 55:952-5, 1969.
- 5 Frenkel, J. K. Toxoplasmosis. Mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. *Curr Top Pathol* 54:29-75, 1971.
- 6 Durfee, P. T. e Chien, J. Transmission of *Toxoplasma gondii* to cats via ingestion of infected pork. *J Am Vet Med Assoc* 159:1783-8, 1971.
- 7 Ito, S., Tsunoda, K., Nishikawa, H. e Matsui, T. Pathogenicity for piglets of *Toxoplasma* oocysts originated from naturally infected cat. *Nat Inst Anim Health Q* 14:182-7, 1974.
- 8 Meuter, F., Famaree, L. e Cotteleer, C. Influence de la virulence des souches toxoplasmiques pour la souris sur leur capacité de former des kistes chez le porc. *Ann Soc Belg Med Trop* 58:95-102, 1978.
- 9 Roudná, V. Experimentální nakaza cystogenní formou *Toxoplasma gondii* u telat a selat. *Statistika Veterinárního Ústavu* 11:47-55, 1981.
- 10 Jacobs, L., Remington, J. S. e Melton, M. L. A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. *J Parasitol* 46:23-8, 1960.
- 11 Ishii, T., Noboru, Y. e Kawai, Y. Indirect hemagglutination test for *Toxoplasma* infection in pigs and men on Amani Oshima, Island, Southern Japan. *Jpn J Exp Med* 42:81-3, 1972.
- 12 Ruiz, A. Isolation of *Toxoplasma gondii* from swine in Costa Rica. *Ann Trop Med Parasitol* 60:429-31, 1966.

- 13 Amaral, V. e Macruz, R. *Toxoplasma gondii*: isolamento de amostras a partir de diafragma de suínos clinicamente sadios abatidos em matadouros de São Paulo-Brasil. *Arq Inst Biol (Sao Paulo)* 36:47-54, 1969.
- 14 Jamra, L. F., Deane, M. P. e Guimarães, E. C. On the isolation of *Toxoplasma gondii* from human food of animal origin. Partial results in the city of São Paulo (Brazil). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 11:169-76, 1969.
- 15 Schenk, M. A. M., Lima, J. D. e Shenk, J. A. P. Isolamento de *Toxoplasma gondii* em suínos do Estado de Minas Gerais. *Arq Esc Vet Univ Fed (Minas Gerais)* 29:25-30, 1977.
- 16 Work, K. Resistance of *Toxoplasma gondii* encysted in pork. *Acta Pathol Microbiol Scand* 73:85-92, 1968.
- 17 Berengo, A., Lalla, F., Cavallini-Sampieri, L., Bechelli, G. e Cavallini, F. Prevalence of toxoplasmosis among domestic and wild animals in the area of Siena, Italy. A serologic and parasitologic study. *Am J Trop Med Hyg* 18:391-4, 1969.
- 18 Hellesnes, I. et al. *Toxoplasma gondii* in swine in south-eastern Norway. *Acta Vet Scand* 19:574-87, 1978.
- 19 Apt. W., Niedmann, G., Pasmanik, S. e Thiermann, E. *Toxoplasmosis*. Santiago, Universidad de Chile, 1973.
- 20 Seah, S. K. K. Toxoplasmosis: a review of newer knowledge. *Can J Public Health* 64(suppl):93-102, 1973.
- 21 Jacobs, L. New knowledge of *Toxoplasma* and toxoplasmosis. *Adv Parasitol* 11:631-59, 1973.
- 22 Riemann, H. P., Brant, P. C., Franti, C. E., Reis, R., Buchanan, A. M., Stormont, C. e Behymer, D. E. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Coxiella burnetii* among students and other personnel in veterinary colleges in California and Brazil. *Am J Epidemiol* 100:197-208, 1974.
- 23 Behymer, R. D., Harlow, D. R., Behymer, D. E. e Franti, C. E. Serologic diagnosis of toxoplasmosis and prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in selected feline, canine and human population. *J Am Vet Med Assoc* 162:959-63, 1973.
- 24 Jones, S. R. Toxoplasmosis: a review. *J Am Vet Med Assoc* 163:1038-42, 1973.
- 25 McKinney, H. R. A study of *Toxoplasma* infections in cats as detected by the indirect fluorescent antibody method. *Vet Med Small Anim Clin* 68:493-5, 1973.
- 26 Krogstad, D. J., Juranek, D. D. e Walls, K. W. Toxoplasmosis, with comments on risk of infection from cats. *Ann Intern Med* 77:773-8, 1972.
- 27 Levine, N. D. *Toxoplasma gondii*. In: Levine, N. D. *Protozoan parasites of domestic animals and of man*. Minneapolis, Burgess, 1973. pp. 294-316.
- 28 Carle, B. N. e Dewhirst, W. H. A method for bleeding swine. *J Am Vet Med Assoc* 101:495-6, 1942.
- 29 Camargo, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 6:117-8, 1964.
- 30 Ishizuka, M. M. Estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e de Imunofluorescência indireta para a determinação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de suínos. *Rev Fac Med Vet Zootec Univ Sao Paulo* 15:45-50, 1978.
- 31 Hanaki, T., Nobuto, K. e Sato, U. Toxoplasma hemagglutination test. 57th Ann Meeting Japan. Soc. Vet. Sci., 1964. Citado por Katsube, Y., Hagiwara, T., Ueda, K., Miyakawa, H., Imaizumi, K., Hanaki, T. e Nobuto, K. Studies on Toxoplasmosis. I Isolation of Toxoplasma from muscles of humans, dogs and cats. *Jpn J Med Sci Biol* 20:413-9, 1967.
- 32 Jacobs, L. e Lunde, M. M. A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J Parasitol* 43:308-14, 1957.

RESUMEN

TOXOPLASMOSIS PORCINA. 1. INOCULACION EXPERIMENTAL CON TAQUIZOITOS DE *TOXOPLASMA GONDII* POR VIA INTRAPERITONEAL. EVOLUCION DE LOS ANTICUERPOS COMPROBADOS POR LAS PRUEBAS DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA Y HEMAGLUTINACION

El objetivo de este artículo es observar la dinámica de la evolución de los anticuerpos comprobados por las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y de hemaglutinación (HA). Se trabajó con una muestra de 27 cerdos. Se inocularon experimentalmente 20 cerdos con la forma infecciosa de los taquizoítos de *Toxoplasma gondii* y se dejó sin inocular a un grupo testigo de siete cerdos. Los animales se observaron durante un período de 84 días (12 semanas). En el día 7 posterior a la inoculación, en 74,0% de los cerdos se comprobaron anticuerpos por IFI y en 21,0% por HA. Los anticuerpos persistieron durante todo el período de observación y los títulos más altos se mostraron por IFI. Ambas pruebas tuvieron una sensibilidad y especificidad de 100% a partir del día 10, cuando todos los cerdos inoculados revelaron anticuerpos, mientras que los cerdos del grupo testigo dieron muestras negativas durante todo el experimento.

SUMMARY

PORCINE TOXOPLASMOSIS. 1. EXPERIMENTAL INTRAPERITONEAL INOCULATION WITH TACHYZOITES OF *TOXOPLASMA GONDII*. DEVELOPMENT OF ANTIBODIES AS DETERMINED BY THE INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE AND HEMAGGLUTINATION TESTS

This article reviews the dynamics of the development of antibodies as determined by the indirect immunofluorescence (IIF) and hemagglutination (HA) tests. Twenty-seven pigs were used; twenty were inoculated experimentally with tachyzoites, an infectious form of *Toxoplasma gondii*, and the other seven were left uninoculated as a control group. The animals were kept under surveillance for 84 days (12 weeks). On the seventh day after inoculation, antibodies were found to be present in 74,0% of the pigs by IIF and in 21,0% by HA. The antibodies persisted throughout the period of observation, and the highest titers were obtained by IIF. Both tests displayed 100% specificity and sensitivity as from the tenth day, when antibodies were found in all the pigs, while the pigs in the control group remained negative throughout the experiment.

RÉSUMÉ

TOXOPLASMOSE PORCINE.

1. INOCULATION EXPÉRIMENTALE DE TACHYZOITES DE *TOXOPLASMA GONDII* PAR VOIE INTRAPÉRITONÉALE. EVOLUTION DES ANTICORPS RÉVÉLÉS PAR LES ÉPREUVES D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET D'HÉMAGGLUTINATION

L'objet de cet article est de suivre la dynamique d'évolution des anticorps dont la présence est révélée par les épreuves d'immunofluorescence indirecte (IFI) et d'hémag-

glutination (HA). L'étude a porté sur un échantillon de 27 porcs. Dans des conditions expérimentales, 20 porcs ont reçu une inoculation de la forme infectieuse des tachyzoites de *Toxoplasma gondii*, tandis que sept porcs constituaient un groupe témoin exempt d'inoculation. Les animaux ont été observés pendant 84 jours (12 semaines). Sept jours après l'inoculation, la technique IFI révélait la présence d'anticorps dans 74,0% des porcs, alors que d'après les résultats de la technique HA 21,0% des animaux avaient des anticorps. Les anticorps persistèrent durant toute la période d'observation et les titres les plus élevés furent associés à la technique IFI. Les deux épreuves ont démontré une sensibilité et une spécificité de 100% à partir du dixième jour, des anticorps étant trouvés dans tous les porcs inoculés alors que les porcs du groupe témoin ont donné des résultats négatifs durant toute l'expérience.