

## ISOLAMENTO DO *Toxoplasma gondii* DE EXSUDATO PERITONEAL E ÓRGÃOS DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO EXPERIMENTAL

Ligia M. Ferreira JAMRA(1) & Mônica de Paula L. VIEIRA(2).

### RESUMO

Foram examinados exsudatos peritoneais e órgãos (cérebro, coração, pulmão e músculo estriado) de 53 camundongos infectados experimentalmente pelo *Toxoplasma gondii*, sendo 21 na fase aguda e 32 na crônica.

Camundongos albinos, machos, de cerca de 25 g e 2 meses de idade foram inoculados, por via intraperitoneal, com 0,5 ml de exsudato peritoneal (taquizoítas) ou macerado de cérebro (cistos) de camundongos previamente infectados. O exame a fresco foi feito no exsudato peritoneal, entre 3 e 12 dias após inoculação e no cérebro, após 10 dias. Foram realizadas inoculações de macerados de órgãos em novos camundongos (repiques) para a recuperação do parasita no exsudato ou no cérebro.

Na infecção aguda as positivities foram, ao exame a fresco: exsudato peritoneal 19/19, pulmão 12/14, músculo 6/9, coração 4/9 e cérebro 1/3. Após inoculação: exsudato peritoneal 5/5, cérebro 2/2, coração 19/19, pulmão 13/13 e músculo 14/17. Após estes últimos resultados foram registrados 9 novos órgãos positivos. A positividade final (igual à recuperação do parasita) foi: exsudato peritoneal 19/19 (100%), coração 15/17 (88,5%), músculo 12/14 (85,7%), pulmão 14/14 (100%) e cérebro 2/3 (66,6%).

Na infecção crônica, que transcorreu entre 10 e 495 dias, as positivities foram, ao exame a fresco: cérebro 28/32, coração 0/4 e músculo 0/4. Após repique: cérebro 6/6, coração 14/29 e músculo 16/26. Neste exame foi revelado um novo camundongo positivo elevando para 29 o total de camundongos positivos ou 90,6%. O resultado final foi: cérebro 28/32 (87,5%), músculo 16/28 (57,15%) e coração 14/31 (45,1%). No fim da pesquisa, aos 495 dias, o cérebro apresentava grandes cistos ao exame a fresco e coração e músculo mostravam-se positivos através da inoculação.

Conclusões: 1º) nos camundongos o toxoplasma persistiu por 495 dias no cérebro, coração e músculo estriado; 2º) o exame a fresco do pulmão pode substituir ou confirmar o do exsudato peritoneal; 3º) a inoculação de órgãos é necessária pois pode revelar novos casos positivos; 4º) a atividade dos cistos foi demonstrada pelo aumento gradual do seu tamanho e pela recuperação do toxoplasma no cérebro, coração e músculo, após o longo tempo de infecção.

**UNITERMOS:** Toxoplasmose experimental em camundongos; Isolamento do *Toxoplasma gondii* de órgãos; Transmissão.

### INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* apresenta-se sob 3 formas principais, todas infectantes: taquizoita, bradizoita (dentro de cistos) e esporozoita (dentro de oocistos).

Trabalho realizado no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Faculdade de Medicina, USP (1987-1989).

1. Professora-Doutora, Ex-Pesquisadora do Instituto de Medicina Tropical, Ex-Chefe do Laboratório de Toxoplasmose.
2. Técnica do Laboratório de Toxoplasmose.

As 3 formas existem somente no gato e outros felídeos (hospedeiros definitivos), nos quais se desenvolvem os ciclos intestinal e extra-intestinal, ou tecidual, do parasita. No homem e outros animais (hospedeiros intermediários) só ocorre o ciclo tecidual. Este se inicia quando o hospedeiro intermediário ingere alimentos, areia ou terra contaminados por oocistos esporulados ou quando ingere cistos através de alimentos infectados, mal-cozidos, principalmente carnes. No intestino delgado estes cistos/ooocistos se rompem sob ação dos sucos digestivos, os bradizoítas/esporozoítas invadem a lâmina própria e aí se desenvolvem em taquizoítas, que proliferam rapidamente dentro de células e se disseminam através da circulação arterial.

Também os taquizoítas se propagam de uma célula a outra através de macrófagos, linfócitos e granulócitos e como formas livres. Estas, porém, desaparecem em pouco tempo, pois os toxoplasmas são parasitas intracelulares obrigatórios. Podem paralisar células nucleadas de qualquer tecido, mas têm preferência pelos tecidos nervoso e muscular.

A fase aguda da toxoplasmose corresponde à multiplicação dos parasitas. À medida que os mecanismos de imunidade se desenvolvem no hospedeiro esta multiplicação diminui e começam a ser formados os cistos teciduais, que são formas de resistência. Encontram-se, de preferência, no cérebro e na retina, mas também nos músculos esqueléticos e no coração e aí persistem durante anos, ou, talvez, por toda a vida do hospedeiro. O mesmo acontece com os anticorpos anti-toxoplasma, o que seria devido ou à presença do parasita ou a antígenos residuais (REMINGTON & CAVANAUGH, 1965)<sup>10</sup>. Segundo FRENKEL (1961)<sup>2</sup>, a presença de uma "barreira" à penetração passiva de anticorpos no cérebro e no globo ocular explica a contínua proliferação de parasitas dentro de células, nesses órgãos, ao mesmo tempo em que eles estão desaparecendo de outros.

REMINGTON et al. (1958)<sup>9</sup> notaram frequência maior de cistos nos cérebros de camundongos e ratos com infecção latente ou crônica do que em órgãos como fígado, baço e rins.

FRENKEL (1961)<sup>2</sup> observou retardo no desaparecimento de cistos no cérebro de um camundongo, enquanto vísceras extraneurais já se apresentavam livres.

Nós já observamos cistos nos cérebros de camundongos desde 14 dias até 6 e 7 meses após infecção experimental, acompanhados de títulos de anticorpos de 1/4096 e 1/8192, ao teste do corante (JAMRA et al., 1985)<sup>6</sup>.

Em gatos experimentalmente infectados, que tiveram vários órgãos examinados a fresco e após inoculação, o isolamento do parasita ocorreu, em 78% dentro do 1º mês, no pulmão, cérebro e linfonodos mesentéricos, em contraste com nenhum isolamento após esse prazo (SOGORB et al., 1973)<sup>11</sup>.

Porém, em gatos com infecção e reinfecção experimentais, o toxoplasma foi recuperado do cérebro aos 66 e 410 dias pós-infecção, e do intestino delgado, do pulmão e linfonodos mesentéricos respectivamente aos 410, 220 e 90 dias (JAMRA et al., 1985)<sup>6</sup>.

REMINGTON & CAVANAUGH (1965)<sup>10</sup> em necrópsias humanas isolaram o toxoplasma tanto de cérebros como de músculos e admitiram que os cistos podem persistir também em órgãos como o coração e os músculos, que não apresentam "barreiras" aos anticorpos.

Neste trabalho propomos estudar a recuperação do *Toxoplasma gondii* de exsudatos peritoneais e órgãos de camundongos infectados experimentalmente, nas fases aguda e crônica da infecção.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos albinos, machos, de cerca de 25 g e 2 meses de idade, sendo examinados 21 na fase aguda e 32 na fase crônica da infecção pelo *Toxoplasma gondii*.

As cepas usadas foram: N (NOBREGA et al., 1952)<sup>6</sup>, AS28 (DEANE et al., 1971)<sup>1</sup>, C4, P, 51A e S11 isoladas no Laboratório de Toxoplasmose do IMT. A primeira, virulenta, provoca infecção aguda, levando à morte do camundongo dentro de 5-7 dias; as outras, menos virulentas, causam infecção de evolução crônica, com aparecimento de cistos nos tecidos, geralmente após o 10º dia.

As cepas N, AS28 e S11 foram inoculadas respectivamente, em 11, 6 e 4 camundongos observados na fase aguda. Para a pesquisa na fase crônica

foram usadas as cepas cistogênicas AS28, C4, P, 51A e S11, respectivamente em 9, 2, 16, 2 e 3 camundongos.

Os inóculos consistiram de exsudatos peritoneais e macerados de pulmão e de coração contendo taquizoítas e macerados de cérebros contendo cistos, diluídos em solução fisiológica a 0,85%, sendo 0,5 ml injetado por via intraperitoneal. Os exsudatos e órgãos foram obtidos de camundongos previamente infectados.

Na fase aguda da infecção os camundongos foram examinados entre 2 e 12 dias. Na fase crônica, a duração da infecção variou de 10 a 495 dias assim distribuídos:

- 10 a 50 dias - 13 casos
- 53 a 150 dias - 11 casos
- 165 a 285 dias - 4 casos
- 300 a 495 dias - 4 casos

Após esse tempo os camundongos foram sacrificados e obtidos exsudato peritoneal, coração, fragmentos de pulmão e de músculos estriados (peitoral e membro anterior) e cérebro. Os exsudatos peritoneais e os macerados de órgãos foram diluídos em solução fisiológica e examinados ao microscópio óptico, a fresco, para a pesquisa de taquizoítas ou de cistos, estes após o uso de cepa cistogênica. Na fase aguda foram examinados, a fresco, órgãos de 21 camundongos, a saber: 19 exsudatos peritoneais, 14 pulmões, 9 corações, 9 músculos estriados e 3 cérebros.

Dos órgãos negativos e também de alguns positivos foram feitas inoculações em camundongos

limpos (repiques) para nova tentativa de isolamento do toxoplasma ou para comparação com o exame a fresco. Assim, foram repicados 19 corações, 12 músculos, 13 pulmões, 5 exsudatos peritoneais e 2 cérebros.

Nos casos de infecção crônica, devido à dificuldade de visualização do parasita nos macerados de coração e músculos, estes passaram a ser examinados apenas após os repiques. Foram examinados, a fresco, 32 cérebros, 4 corações e 4 músculos; após os repiques, 29 corações, 26 músculos e 6 cérebros.

O exame dos camundongos-repiques foi feito no exsudato peritoneal (taquizoítas) e no cérebro (cistos). Foram considerados positivos os camundongos que morreram de infecção e não foram examinados.

## RESULTADOS

### Infecção aguda

Os resultados dos exames efetuados são apresentados na Tabela 1.

Nos 21 camundongos foram registrados 42 exames a fresco e 53 repiques positivos. Após o repique houve encontro de 9 novos órgãos positivos: 5 corações, 2 pulmões e 2 músculos.

As positivities finais nos camundongos foram: exsudato peritoneal 19/19 (100%), pulmão 16/16 (100%), coração 19/20 (95%), músculo 14/16 (87,5%) e cérebro 2/3 (66,6%).

TABELA 1  
Resultados na infecção aguda.

órgãos	positivos no exame a fresco	%	positivos na inoculação	%	total	%
exsudato peritoneal	19/19	100,0	5/5	100,0	24/24	100,0
coração	4/9	44,4	19/19	100,0	23/28	82,1
pulmão	12/14	85,7	13/13	100,0	25/27	92,5
músculo	6/9	66,6	14/17	82,3	20/25	80,0
cérebro	1/3	33,3	2/2	100,0	3/5	60,0

órgãos positivos/órgãos examinados

A relação dias/órgãos positivos está na Tabela 2.

TABELA 2  
Positividade na infecção aguda e tempo de infecção.

Dias de infecção	Positivos no exame a fresco	Positivos na inoculação
2	-	coração, pulmão, músculo
3	exsudato peritoneal pulmão, músculo	coração, pulmão, músculo
4	-	coração, músculo
5	exsudato peritoneal coração, pulmão	exsudato peritoneal coração, pulmão, músculo
6	exsudato peritoneal coração, pulmão	coração, pulmão
7	exsudato peritoneal pulmão, músculo	exsudato peritoneal coração, pulmão, músculo
8	exsudato peritoneal coração, pulmão, músculo	coração, músculo
9	exsudato peritoneal pulmão	exsudato peritoneal coração, pulmão
10	exsudato peritoneal coração, pulmão músculo, cérebro	cérebro, músculo exsudato peritoneal coração, pulmão
12	exsudato peritoneal pulmão (outros órgãos não examinados)	exsudato peritoneal pulmão (outros órgãos não examinados)

Positividade = taquizoítas no exsudato peritoneal ou cistos no cérebro.

Vê-se que o exsudato peritoneal e o pulmão mostraram-se positivos ao exame a fresco, desde o 3º até o 12º dia. Pulmão, coração e músculo apresentaram positividade à inoculação, desde o 2º até o 10º dia; o pulmão também foi positivo no 12º dia, porém os outros órgãos não foram examinados. O cérebro apresentou-se positivo no 10º dia, em ambos os exames.

A forma do parasita (taquizoíta ou cisto) e a sua origem (exsudato peritoneal, pulmão, coração ou cérebro) não tiveram relação com a sua recuperação, como pôde ser observado nos camundongos inoculados com taquizoítas de pulmão e coração, ou com cistos de cérebro. Entretanto, só a inoculação de cepa menos virulenta, cistogênica, levou ao aparecimento de cistos nos tecidos.

Assim, em um camundongo inoculado com a cepa AS28, cistogênica, o coração e o músculo mostraram-se negativos ao exame a fresco no 7º dia, mas os camundongos dos repiques desses órgãos tiveram uma infecção de evolução crônica e apresentaram cistos nos cérebros, quando sacrificados no 23º dia.

Outro camundongo, porém, inoculado com a mesma cepa AS28, apresentou taquizoítas no cérebro, quer ao exame a fresco no 10º dia, quer no 9º dia após a inoculação, provavelmente ainda cedo, para o desenvolvimento de cistos, em geral após o 10º dia. O mesmo aconteceu com camundongos inoculados com a cepa cistogênica S11.

### Infecção crônica

Os resultados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3  
Resultados na infecção crônica.

órgãos	positivos no exame a fresco	%	positivos na inoculação	%	total	%
cérebro	28/32	87,5	6/6	100,0	34/38	89,4
músculo	0/4	0	16/26	61,7	16/30	53,3
coração	0/4	0	14/29	48,2	14/32	40,6

órgãos positivos/órgãos examinados

Nessa, ao exame a fresco, o cérebro apresentou-se positivo (cistos) em 28 camundongos ou 87,3%; coração e músculo foram negativos.

Em 4 camundongos que tiveram 3 órgãos examinados a fresco os resultados foram: 2 negativos nos 3 órgãos e 2 com apenas os cérebros positivos. Nos dois primeiros os órgãos não foram repicados; nos outros 2 os corações e os músculos apresentaram positividade nos repiques.

Dos 4 camundongos em que os cérebros foram negativos ao exame a fresco, 2 não tiveram órgãos inoculados; o 3º apresentou também órgãos negativos após o repique (único camundongo realmente negativo); no 4º a inoculação do músculo revelou taquizoítas no exsudato peritoneal no 9º dia. Este último resultado aumentou para 29 (90,6%) o número de camundongos em que foi recuperado o toxoplasma, quer ao exame a fresco, quer após inoculação.

No final, a recuperação nos camundongos deu-se: no cérebro em 28 de 32 camundongos ou 87,5%, no músculo em 16 de 28 ou 57,1% e no coração em 14 de 31 camundongos ou 45,1%.

A tabela 4 apresenta a relação positividade/tempo de infecção. O mais precoce aparecimento de cistos no cérebro, ao exame a fresco, deu-se, em 2 camundongos, aos 10 dias de infecção por cepa AS28; em um deles coração e músculo também se apresentaram positivos após inoculação.

TABELA 4

Positividade na infecção crônica e tempo de infecção.

Dias de infecção	Positivos no exame a fresco	Positivos na inoculação
10 a 50	cérebro	cérebro, coração, músculo
53 a 100	cérebro	cérebro, coração, músculo
113 a 285	cérebro	coração, músculo cérebro não examinado
300 a 495	cérebro	cérebro, coração, músculo

Positividade = Taquizoítas no exsudato peritoneal ou cistos no cérebro.

Após os repiques, os camundongos sacrificados apresentaram taquizoítas no exsudato peritoneal, 5 e 7 dias após inóculo de cérebro (cepa AS28), e 9 e 11 dias após inoculados cérebro, coração e músculo (cepas P e S11). Nos cérebros,

cistos foram vistos pela 1ª vez 11 dias após inoculação de coração (cepa AS28) e 14 dias após inóculos de cérebro, coração e músculo (cepas AS28 e C4).

No exame a fresco dos cérebros, durante esses meses de observação, chamou a atenção um aumento gradativo no tamanho dos cistos, bem como a existência de cistos de vários tamanhos, no mesmo material.

No final da pesquisa, aos 495 dias, o cérebro apresentava grandes cistos ao exame a fresco e coração e músculo também foram positivos através da inoculação.

## DISCUSSÃO

A persistência do *Toxoplasma gondii*, sob a forma de cistos nos tecidos, foi demonstrada por vários autores, em ratos, camundongos, gatos e mesmo em humanos. Todos concordando que o cérebro é o órgão preferido pelo parasita e no qual este perdura mais tempo, em relação a vísceras extraneurais (REMINGTON et al., 1958)<sup>9</sup>, (FRENKEL, 1961)<sup>2</sup>. Em gatos experimentalmente infectados, SOGORB et al. (1973)<sup>11</sup> isolaram o toxoplasma apenas no 1º mês. Porém, em gatos com reinfeção por cepa mais virulenta, o parasita foi recuperado após 90, 220 e 410 dias, respectivamente, de linfonodos mesentéricos, pulmão e cérebro e oocistos foram reeliminados nas fezes (JAMRA et al., 1985)<sup>6</sup>. Possivelmente a reinfeção provocou uma reativação do ciclo evolutivo do toxoplasma.

Nossos resultados mostraram que, na fase aguda, o isolamento do toxoplasma, ao exame a fresco, deu-se principalmente no exsudato peritoneal (100%) e no pulmão (85,7%), seguidos pelo músculo, coração e cérebro. A inoculação deste órgão, porém, revelou 100% de positividade em todos, exceto o músculo (82,3%), pondo em evidência o valor desta técnica no isolamento do parasita. Também ficou evidente o valor do exame do pulmão, quer a fresco, quer após inoculação.

No final, o exsudato e o pulmão foram encontrados positivos em 100% dos camundongos, o coração em 95%, músculo em 87,5% e o cérebro apenas em 66,6%.

Na fase crônica o exame a fresco revelou-se

eficiente em relação ao cérebro (87,5%), mas não em relação ao coração e músculo. A inoculação permitiu a recuperação de 100% em relação ao cérebro, de 61,7% ao músculo e de 48,2% ao coração. Também nesta fase a inoculação revelou melhores resultados.

No final, o parasita foi recuperado do cérebro em 87,5% dos camundongos e do músculo e do coração respectivamente em 57,1% e 45,1%.

Conclui-se que o exame a fresco foi mais eficiente no exsudato peritoneal e no pulmão, na fase aguda da infecção e no cérebro, na fase crônica. Assim como a inoculação foi a técnica que revelou melhores resultados, quer na infecção aguda, quer na crônica.

A infecção crônica foi observada do 10<sup>o</sup> ao 495<sup>o</sup> dia. O primeiro aparecimento de cistos no cérebro aos 10 dias, coincidiu com resultados de KITTAS et al. (1984)<sup>7</sup> que os encontraram, em cortes histológicos de cérebros de camundongos na 2<sup>a</sup> semana de infecção, sendo que as primeiras alterações patológicas nesses órgãos só surgiram após a 2<sup>a</sup> semana.

No 495<sup>o</sup> dia o cérebro apresentou grandes cistos ao exame a fresco e coração e músculo mostraram-se positivos após a inoculação.

A presença de cistos de grande tamanho nos cérebros de camundongos com infecção crônica prolongada revela ativa multiplicação dos braquizoítas dentro dos cistos, provavelmente conseqüência de uma "barreira" aos anticorpos sanguíneos exercida pela membrana cística, "barreira" que se estende aos fármacos (HIRT et al., 1974)<sup>5</sup>. Esta "barreira" poderá existir em todos os órgãos em que se formam cistos, como coração e músculo e não apenas no cérebro e globo ocular.

O encontro de cistos de vários tamanhos, no mesmo material examinado, deve ser conseqüência de rupturas de grandes cistos, com formação de "grupos" e de pequenos e médios cistos durante os meses de evolução de uma infecção crônica.

Nos infectados pelo *Toxoplasma gondii* a presença de anticorpos séricos antitoxoplasma por longo tempo, ou mesmo por toda a vida, está, provavelmente, relacionada à permanência de cistos

ativos nos tecidos. FRENKEL (1988)<sup>3</sup> sugeriu a existência de uma imunidade-infecção que levaria à formação de cistos e de uma imunidade-estérel que, por meio de um taquizoita "mutante", impediria essa formação. Na prática, observamos esse efeito em cepas pouco virulentas e cistogênicas, que após muitas passagens em camundongos se tornaram virulentas e acistogênicas (amostras mais recentes das cepas AS28 e S11).

A permanência de cistos ativos nos tecidos dos camundongos por longo tempo tem relevante importância epidemiológica. Segundo HAY & HUTCHINSON (1988)<sup>4</sup>, as lesões que acompanham a presença dos cistos no cérebro levam a alterações do comportamento ambiental dos camundongos e à diminuição das atividades motora e reflexa, tornando-os presa fácil dos gatos. Em conseqüência, a ingestão pelos gatos de camundongos infectados leva à produção e eliminação de oocistos, uma das formas conhecidas da transmissão da zoonose ao homem.

## CONCLUSÕES

1<sup>a</sup>) em camundongos experimentalmente infectados pelo *Toxoplasma gondii* o parasita foi isolado do exsudato peritoneal, pulmão, coração, músculo estriado e cérebro, na fase aguda e do cérebro, músculo e coração na fase crônica.

2<sup>a</sup>) o exame a fresco do pulmão é recomendado como substituto ou confirmação do exame do exsudato peritoneal; é de fácil execução e permite boa visualização dos taquizoítas, quer no macerado, quer na impressão do órgão.

3<sup>a</sup>) a inoculação dos órgãos negativos ao exame a fresco em camundongos limpos (repique) é importante, pois pode revelar novos casos positivos.

4<sup>a</sup>) a atividade dos cistos pôde ser comprovada pelo aumento gradual de seu tamanho durante a infecção e pela recuperação do parasita no cérebro, coração e músculo estriado, após longo tempo de infecção.

## SUMMARY

**Isolation of *Toxoplasma gondii* from peritoneal exsudates and organs of experimentally infected mice.**

Peritoneal exsudates and organs from 53 male albino mice, experimentally infected by *Toxoplasma gondii* were studied, 21 at the acute phase of infection, and 32 at the chronic phase.

Peritoneal inoculations were made with 0,5 ml of peritoneal exsudates (tachyzoites), or brain macerates (cysts) of previously infected mice.

Direct examinations of peritoneal exsudates (tachyzoites) were realized between 3 to 12 days post-inoculation, and in brain (cysts) after 10 days post-inoculation. Organs macerates were inoculated in new mice, for the parasite recovering, from exsudates or from brains.

At the acute infection (3 to 12 days) the positivity at the direct examination was: peritoneal exsudate 19/19, lung 12/14, muscle 6/9, heart 4/9 and brain 1/3. After inoculation: peritoneal exsudate 5/5, heart 9/9, lung 13/13, muscles 14/17 and brain 2/2. Then, there were 9 new positive organs.

At the chronic infection, between 10 and 495 days, the positivity was, at direct examination: brain 28/32, heart 0/4 and muscle 0/4. After inoculation: brain 6/6, heart 14/29 and muscle 16/26. After that a new positive mouse was detected, which leads to 29 the positivity for all mice, or 90,6%.

Finally the positivity for the acute phase was: peritoneal exsudate 19/19 (100%), heart 15/17 (88,5%), muscle 12/14 (85,7%), lung 14/14 (100%) and brain 2/3 (66,6%). For the chronic phase: brain 28/32 (87,5%), muscle 16/28 (57,1%) and heart 14/31 (45,1%).

At the end of experience, at the 495<sup>th</sup> day, the brain still presented large cysts by direct examination and also the heart and muscle were positives after inoculation.

Conclusions: 1<sup>st</sup>) on mice the *Toxoplasma gondii* remained for 495 days, mainly on the brain, but also on heart and muscle; 2<sup>nd</sup>) the lungs direct examination could be useful as substitute of the peritoneal exsudate examination; 3<sup>th</sup>) organs inoculations are necessary for the discovery of new infected mice; 4<sup>th</sup>) the cyst activity was

demonstrated by its gradative increase during the chronic infection, and by its recovery in tissues after a long time.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DEANE, M.P.; SOGORB, S.F.; JAMRA, L.M.F. & GUIMARÃES, E.C. - On the gametogonic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 13: 110-113, 1971.
2. FRENKEL, J.K. (1961) Apud KRAHENBUHL, J.C. & REMINGTON, J.S. - Immunology of *Toxoplasma* and *Toxoplasmosi*. In: COHEN, S. & WARREN, K.S. - *Immunology of parasitic infections*. 2nd. ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1982. p. 356-421.
3. FRENKEL, J.K. - Pathophysiology of *Toxoplasmosis*. *Parasitology Today*, 4: 273-278, 1988.
4. HAY, J. & HUTCHINSON, W.M. - *Toxoplasma gondii* an environmental contaminant. *Ecol. Dis.*, 2 (1): 33-43, 1983.
5. HIRT, J.; ALBESI, E.J.; BARTOLO, I.D.; JURGENS, E.E.; MONTEN-VERDE, D.A.; MORGENFELD, M.C.J. & SOMOZA, M.J. - *Toxoplasmosis*. Buenos Aires, El Ateneo, 1974.
6. JAMRA, L.M.F.; SOGORB, F.S. & GUIMARÃES, E.C. - Reinfecção pelo *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux 1909 em camundongos e gatos. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 27: 318-327, 1985.
7. KITTAS, S.; KITTAS, C.; PAIZI-BIZA, P. & HENRY, L. - A histological and immunohistochemical study of the changes induced in the brains of white mice by infection with *Toxoplasma gondii*. *Brit. J. exp. Path.*, 65: 67-74, 1984.
8. NOBREGA, P.; TRAPP, L.E. & GIOVANNONI, M. - *Toxoplasmosis epizootica em coelhos*. I. Ação de sulfadiazina. *Ciê. e Cult.*, 4: 134-135, 1952.
9. REMINGTON, J.S.; JACOBS, L. & KAUFMAN, H.E. (1958) Apud KRAHENBUHL, J.C. & REMINGTON, J.S. - Immunology of *Toxoplasma* and *Toxoplasmosi*. In: COHEN, S. & WARREN, K.S. - *Immunology of parasitic infections*. 2nd. ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1982. p. 356-421.
10. REMINGTON, J.S. & CAVANAUGH, E. - Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. *New Engl. J. Med.*, 273: 308-310, 1965.
11. SOGORB, F.S.; JAMRA, L.M.F.; GUIMARÃES, E.C. & DEANE, M.P. - Experimental feline toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 15: 131-134, 1973.

Recebido para publicação em 19/12/1990.  
Aceito para publicação em 04/06/1991.