

PERFIL DE RESPOSTA IMUNE HUMORAL FRENTE A REINFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Toxoplasma gondii* EM CAMUNDONGOS BALB/c

HUMORAL IMMUNE RESPONSE PROFILE TO EXPERIMENTAL REINFECTION BY *Toxoplasma gondii* IN BALB/c MICE

JAQUELINE ATAÍDE SILVA LIMA DA IGREJA¹, JADE OLIVEIRA DE MELO³, ADIEL DIAS VIEIRA³, MOISÉS MORAIS INÁCIO^{1,2}, ANA MARIA DE CASTRO³

1. Centro Universitário Estácio de Goiás, Goiás, Brasil; 2. Instituto de Ciências Biológicas – ICB, Universidade Federal de Goiás. 3. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP, Universidade Federal de Goiás

* Centro Universitário Estácio de Goiás, Goiás, Brasil. Av. Goiás, 2151 - St. Central, Goiânia - GO, 74063-010. Autor correspondente: Jaqueline Ataíde Silva Lima da Igreja: jaquelinellima21@gmail.com

Recebido em 22/10/2022. Aceito para publicação em 29/11/2022

RESUMO

A toxoplasmose, causada pelo parasito *Toxoplasma gondii*, é uma zoonose de distribuição global que pode levar a sérias complicações, incluindo doenças congênitas e aborto em várias espécies. Este estudo investiga a dinâmica da resposta imune em camundongos infectados e reinfetados com cepas de *T. gondii* de genótipos iguais e diferentes. Camundongos BALB/c foram infectados inicialmente com a cepa ME49 (tipo II), após 49 dias da primo infecção foram reinfetados com a mesma cepa ou com a cepa RH (tipo I). A análise sorológica revelou a produção de anticorpos IgM e IgG, indicando infecção aguda e crônica, respectivamente. A resposta imune observada sugere que a primo-infecção não conferiu proteção contra reinfecções, independentemente do genótipo ou da concentração do inóculo. Os resultados destacam a relevância da pesquisa em grupos de risco, como gestantes e indivíduos imunocomprometidos, que podem ser suscetíveis a reinfecções por diferentes cepas de *T. gondii*.

PALAVRAS-CHAVE: Toxoplasmose; Resposta Imune; Reinfecção.

ABSTRACT

Toxoplasmosis, caused by the parasite *Toxoplasma gondii*, is a worldwide zoonosis that can lead to serious complications, including congenital diseases and abortion in various species. This study investigates the dynamics of the immune response in mice infected and reinfected with *T. gondii* strains of the same and different genotypes. BALB/c mice were initially infected with the ME49 strain (type II) and, after 49 days, reinfected with either the same strain or the RH strain (type I). Serological analysis revealed the production of IgM and IgG antibodies, indicating acute and chronic infection, respectively. The immune response observed suggests that the primary infection did not confer protection against reinfecions, regardless of the genotype or inoculum concentration. The results emphasize the relevance of research in at-risk groups,

such as pregnant women and immunocompromised individuals, who may be susceptible to reinfection by different *T. gondii* strains.

KEYWORDS: Toxoplasmosis; Immune Response; Reinfection.

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, causada pelo parasito *Toxoplasma gondii*, um coccídeo intracelular obrigatório, que infecta a maioria dos animais vertebrados e invertebrados, entre estes o homem (SINHORINI et al., 2017; SMITH et al., 2021). Esta zoonose possui uma grande importância médica e veterinária, principalmente por causar graves danos ao recém-nascido por ser de transmissão vertical e/ ou aborto em diversas espécies (SILVA et al., 2006).

T. gondii possui cepas de diferentes genótipos, sendo classificadas como virulentas ou avirulentas, e caracterizadas em três tipos predominantes: tipo I, II e III, e além dessas três linhagens, há também as cepas atípicas, que se diferem das demais (DUBEY et al., 2012; SU et al., 2012; REZENDE et al., 2021).

As cepas do tipo I possuem um perfil agudo de infecção, sendo consideradas altamente patogênicas em camundongos, podendo ocorrer o óbito dos animais entre o 5º e 10º dia após a infecção, e a cepa RH é a cepa padrão (GRIGG et al., 2003; AJZENBERG et al., 2004; DUBEY, 2008). As cepas do tipo II (ME49) são consideradas menos patogênicas do que a tipo I (RH), e são capazes de

induzir infecção crônica, com a produção de cistos teciduais nos animais. Já as cepas do tipo III (VEG) são ditas de baixa virulência, pois a infecção causada é mais branda e assim como as cepas do tipo II, apresentam uma infecção crônica devido a resposta imune (DUBEY, 2008; STUTZ et al., 2012). As denominadas de cepas atípicas têm ampla distribuição geográfica e a variação do comportamento biológico varia muda de acordo com as características genéticas do parasito (DUBEY et al., 2002; SARAF et al 2017).

A virulência da cepa, concentração do inóculo, via de infecção, capacidade de resposta imune, idade e características genéticas do hospedeiro são fatores que influenciam no prognóstico da infecção e consequentemente nas manifestações clínicas da doença (RORMAN et al., 2006; ROBERT-GANGNEUX E DARDÉ, 2012; KOLOREN E DUBEY, 2020).

Devido a infecção induzir a resposta humoral de forma efetiva, utilizam-se exames imunológicos para diagnóstico, atuando na detecção de imunoglobulinas das classes A, M e G específica (Ig anti- *T. gondii*), confirmando assim a exposição ao parasito (RODRIGUES et al., 2009; SERRANTI et al., 2011), uma vez que a produção de anticorpos é relativamente rápida e intensa com elevados títulos de IgG e IgM (FILISSETTI E CANDOLFI, 2004; LIMA E LODOEN, 2019).

Um paradigma da imunidade descrita na infecção por *T. gondii* está sendo revisto, pois além da reativação, pode ocorrer também a reinfeção, caracterizada como exposição a um grande número de parasitos da mesma cepa ou cepa com genótipo diferente da primo-infecção. Contudo, avaliar o surgimento e acompanhamento dos anticorpos IgM e IgG na reinfeção experimental é de suma importância, a fim de comprovar que a imunidade desenvolvida na primo-infecção não protege contra infecções futuras, seja de mesmo ou diferente genótipo (JENSEN et al., 2015; REZENEZHAD et al., 2017). O objetivo do estudo é avaliar a dinâmica da resposta imune, através da dosagem de anticorpos das classes IgM e IgG, em camundongos infectados e reinfectados com cepas de *T. gondii* de mesmo genótipo e diferente genótipo da primo-infecção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS: Foram utilizados 32 camundongos (*Mus musculus*) da linhagem BALB/c, provenientes do biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG). O projeto foi apreciado e aprovado pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Goiás, sob o protocolo 086/2017.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: Foram infectados 32 camundongos com a cepa ME49 de *T. gondii*, estes animais foram divididos nos seguintes grupos: controle, ME+ME, ME+RH100 e ME+RH500, com 8 animais em cada grupo (Figura 1a).

Após a infecção dos animais, semanalmente foram realizadas coletas de sangue periférico caudal em papel filtro (coletados nos dias 07, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 após a infecção).

A reinfeção foi realizada após a confirmação da cronicidade da infecção, que ocorreu no 49º dia, onde a sorologia realizada por Imunofluorescência indireta (IFI) para anticorpos da classe IgM estava negativa e os títulos de anticorpos IgG se estabilizaram. A coleta de sangue periférico caudal para o grupo ME+ME prosseguiu semanalmente (dias 56, 63, 70, 77, 84, 91 e 98) por se tratar de uma cepa crônica de baixa virulência e para o grupo ME+RH a coleta passou a ser diária (entre os dias 50 á 63), devido a cepa RH ser altamente virulenta, causando a morte dos animais em poucos dias.

A IFI realizada nas amostras de sangue coletadas em papel filtro foram utilizadas para o acompanhamento do surgimento de anticorpos da classe IgM e IgG, onde foram considerados positivos para IgM títulos ≥ 5 e IgG ≥ 20 . A diluição ocorreu na razão de dois, até o título final, sendo que o mesmo é determinado pela última diluição que apresentar fluorescência.

INFEÇÃO: A primo-infecção foi realizada a partir da inoculação de cistos da cepa ME49, tipo II, por gavagem, obtidos através da maceração de cérebro de camundongos previamente infectados com essa cepa. Foram inoculados 10 cistos por camundongo.

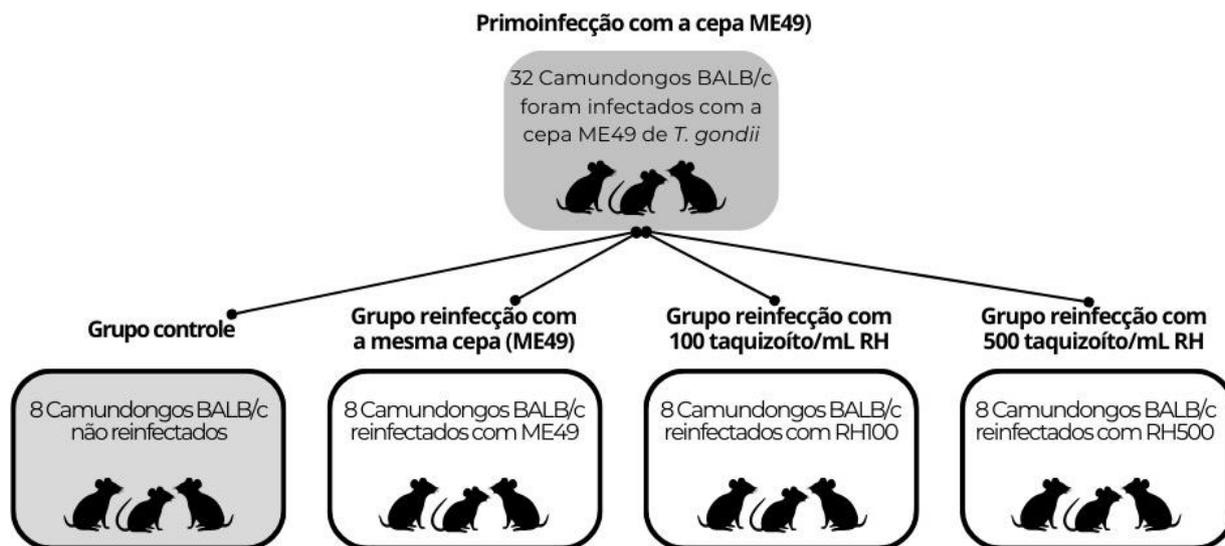


Figura 1: Delineamento experimental a partir de 32 camundongos infectados com a cepa ME49 de *Toxoplasma gondii* e reinfectedados com cepas de mesmo genótipo e de diferente genótipo da primo-infecção.

A reinfecção de ambos os grupos foi realizada no dia 49, onde a infecção apresentou características de cronificação, confirmado pela estabilização dos anticorpos IgG e negatização de IgM. No grupo ME+ME, os camundongos foram reinfectedados com o mesmo genótipo da primo-infecção, através da inoculação de 10 cistos de ME49 por gavagem, já nos grupos ME+RH100 e ME+RH500, os camundongos foram reinfectedados, com 100 taquizoítos/ml e 500 taquizoítos/ml, respectivamente, da cepa RH, por via intraperitoneal. Os animais do grupo controle não foram submetidos a reinfecção.

SOROLOGIA: A IFI foi realizada de acordo com Camargo et al. (1964), com modificações na utilização do papel filtro na coleta da amostra. Esta metodologia é considerada padrão ouro para diagnóstico, apresentando boa especificidade e sensibilidade na fase aguda (pesquisa de anticorpos IgM) e fase crônica (pesquisa de anticorpos IgG) (MONTROYA E LISENFELD, 2004; SHAAPAN et al., 2008).

3. RESULTADOS

A partir dos resultados obtidos pela sorologia anti-*T. gondii* IgM e IgG, foi possível analisar o perfil da resposta imune frente aos desafios da infecção e

reinfecção com cepa de mesmo e diferente genótipo da primo-infecção.

A dinâmica da resposta imune da infecção aguda da toxoplasmose, por meio da dosagem de IgM, demonstrou que os anticorpos dessa classe começaram a ser detectados em ambos os grupos a partir do 7º dia de infecção, permanecendo nos grupos controle e ME+ME até o 42º dia de infecção e nos grupos ME+RH100 e ME+RH500, os anticorpos IgM permaneceram até o 35º dia, com títulos variando entre 5 e 10. Após a reinfecção com o mesmo genótipo (ME+ME), os anticorpos IgM foram detectados no dia 56 e permaneceram até o dia 70. Já para o grupo reinfectedado por diferente genótipo (ME+RH100 e ME+RH500), os anticorpos IgM foram detectados no dia 52 e permaneceram até o dia 57 de reinfecção (Figura 2).

Na análise da resposta imune da infecção crônica da toxoplasmose, realizada pela dosagem de anticorpos da classe IgG, foi possível constatar que os anticorpos dessa classe começaram a surgir em ambos os grupos a partir do 21º dia de infecção e persistiram nos grupos Controle e ME+ME até o fim do experimento (dia 98), no grupo ME+RH100 até o dia 63 e no grupo ME+RH500 até o dia 60, sendo que os títulos apresentados nestes grupos durante a reinfecção com cepa RH foram elevados (títulos de 80 a 640), devido a sua alta virulência, tendo assim a capacidade de levar os animais a óbito em poucos dias (Figura 3).

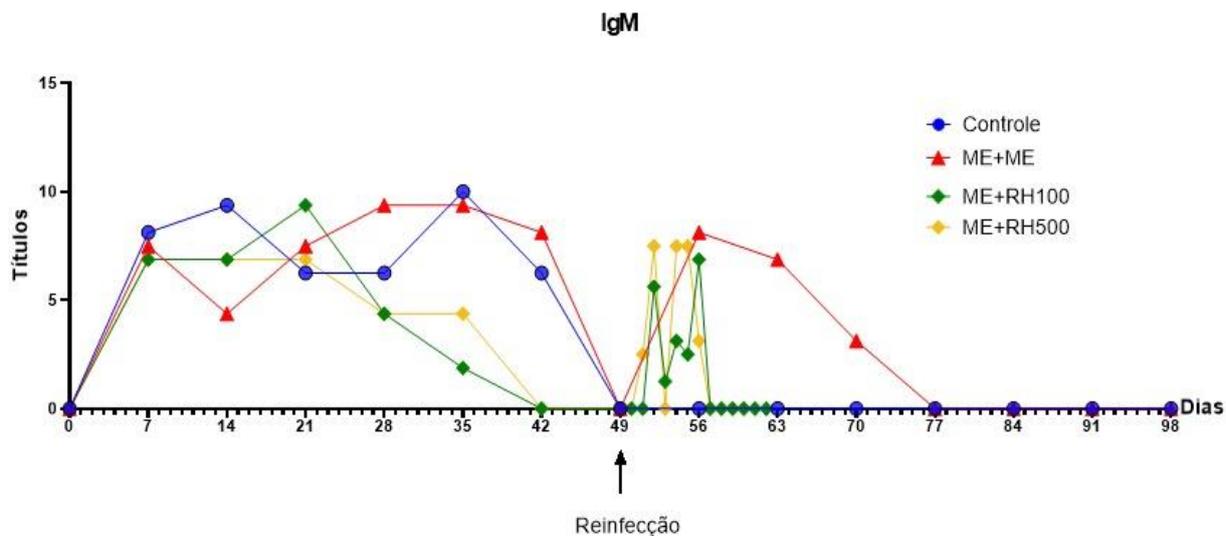
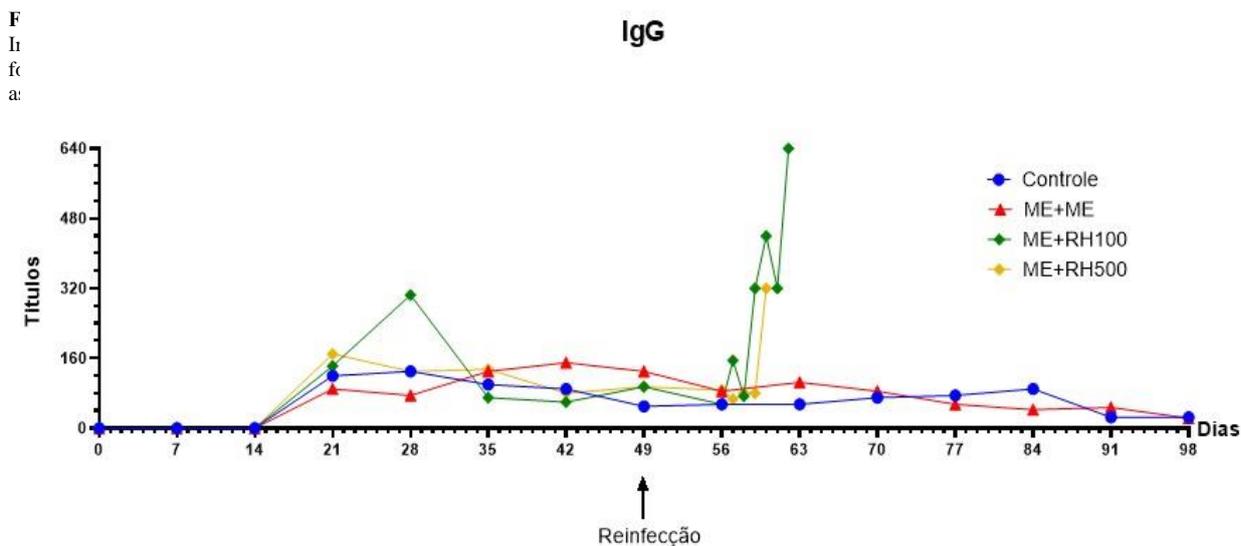


Figura 2: Perfil da resposta imune da infecção por *Toxoplasma gondii*, através da dosagem de anticorpos da classe IgG detectados por Imunofluorescência Indireta, realizado experimentalmente em 32 camundongos BALB/c, divididos nos grupos Controle, ME+ME, ME+RH100 foram a óbito, no dia 63 os camundongos do grupo ME+RH100 foram a óbito. Os animais do grupo controle e ME+ME se mantiveram vivos até o fim do experimento. As linhas mostradas na figura representam as médias de cada grupo.

com os resultados encontrados neste estudo, onde os anticorpos IgM na primo-infecção foram detectados



DISCUSSÃO

A resposta imune humoral desencadeada por *T. gondii* induz resposta humoral levando a produção de anticorpos específicos contra o parasito, sendo que esses marcadores são utilizados no diagnóstico sorológico da infecção (SERRANTI et al., 2011; LIMA E LODOEN; 2019). De acordo com Villard e colaboradores em 2016, os anticorpos IgM são produzidos após sete dias de infecção, alcançando altos picos em poucas semanas e decaindo gradualmente até o fim da fase aguda, corroborando

após o 7º dia e negativaram no 49º dia, voltando a ser detectada, a partir do 3º dia de reinfecção no grupo ME+RH500, 4º dia para o grupo ME+RH100 e 7º dia de reinfecção no grupo ME+ME.

Os anticorpos da classe IgG são produzidos de uma a duas semanas após a primo infecção, atingindo os títulos máximos em seis semanas, assim decaem até se estabilizarem e permanecerem positivos ao longo da vida, indicando a exposição ao parasito (RODRIGUES et al., 2009; TALABANI et al., 2010; VILLARD et al., 2016). No presente estudo, os

resultados encontrados na detecção de anticorpos IgG são coerentes com os autores acima citados, apenas variando na semana de detecção, que foi a partir da terceira semana de infecção, estabilizando-se na quinta semana de infecção até o período da reinfeção e permanecendo positivos até o fim do experimento, como descrito pelos mesmos.

Apesar de Dunay e Sibley (2010) afirmarem que a resposta imune induzida na infecção por *T. gondii* é consistente e duradoura no controle da infecção e esta é capaz de imunizar contra a infecções futuras, vários autores têm demonstrado o contrário (JENSEN et al., 2015; SANTOS, 2018), assim como os resultados deste estudo, que comprovou que a primo-infecção não foi capaz de proteger contra infecções futuras, sendo elas de mesmo genótipo ou genótipo diferente da primo-infecção.

Devido à grande variabilidade genética de *T. gondii*, existem estudos que tentam compreender o quanto a infecção por uma cepa é capaz de proteger contra outra, a fim de derrubar o paradigma de que a imunidade desenvolvida pela infecção inicial protege contra infecções futuras (JENSEN et al., 2015). Jensen e colaboradores (2015) estudaram camundongos C57BL/6 cronicamente infectados com uma cepa tipo III, submetidos ao desafio com diferentes cepas atípicas 30 dias após a infecção, onde observaram que infecção primária não protegeu contra a maioria dos desafios. No cérebro dos animais desafiados, foi verificada a presença simultânea da cepa da primo-infecção e da cepa do desafio, dessa forma sendo capaz de ampliar a diversidade genética da espécie.

Neste sentido, os resultados obtidos através do ensaio experimental no presente estudo, corroboram com dados descritos por Remington e colaboradores (1995), Jensen e colaboradores (2015) e Santos (2018) que relataram que a imunidade prévia para *T. gondii* em camundongos, causada pela primo-infecção não são capazes de proteger o suficiente a fim de evitar uma infecção futura.

A cepa ME49 (tipo II) é considerada de baixa virulência para camundongos, pois é capaz de causar infecção crônica, com isso os animais infectados com cistos dessa cepa apresentaram baixa mortalidade observado nos grupos controle e ME+ME onde os camundongos permaneceram vivos até o fim do

experimento. Os resultados sugerem que a resposta imune conferida na infecção primária com cepa ME49 não foi capaz de proteger os camundongos quando desafiados com cepa de mesmo genótipo.

A cepa RH (tipo I) é considerada virulenta para camundongos, e apresenta maior letalidade levando camundongos a óbito entre o 5º a 15º dia, onde os camundongos desafiados com essa cepa foram a óbito 14 dias após a reinfeção. Os resultados obtidos são coerentes com o de Dzitko e colaboradores (2006) que afirmaram que camundongos infectados com cepas de tipo II e desafiados com cepa virulenta tipo I não apresentaram imunidade protetora quando desafiados com cepa de diferente genótipo da primo-infecção.

Neste estudo, os animais quando desafiados com cepa RH, genótipo diferente da primo-infecção, apresentaram novamente anticorpos da classe IgM, um indicativo de infecção aguda e houve a detecção de anticorpos IgG com títulos elevados, variando entre 80 e 640, indicando uma infecção crônica. Esses dados são coerentes com os descritos por Santos em 2018, onde afirmou que a infecção primária não imuniza o hospedeiro contra diferentes genótipos, assegurando que apenas cepas do tipo III são capazes de induzir imunidade protetora a fim de prevenir a progressão de infecção secundária por cepas tipo I e II.

Estudos comprovaram a reinfeção por *T. gondii* em mulheres gestantes imunocompetentes, que se encontravam na fase crônica da infecção, podendo ocorrer a transmissão congênita e possíveis sequelas graves para o feto (SILVEIRA et al., 2003; VALDÈS et al., 2011), além de mostrar que a presença de IgG anti-*T. gondii* não é sinônimo de proteção, uma vez que o indivíduo pode adquirir novamente a infecção por cepas de *T. gondii*, diferentes da primo-infecção. (ELBEZ –RUBINSTEIN et al., 2009).

Logo, os camundongos cronicamente infectados com a cepa ME49 de *T. gondii* quando desafiados com as cepas ME49 e RH desenvolveram novamente a infecção aguda, com a detecção de IgM, e o aumento dos níveis de anticorpos IgG, demonstrando que a primo-infecção não foi capaz de imunizar contra infecções futuras, sendo elas de mesmo ou diferentes genótipos, independente do inóculo utilizado.

4. CONCLUSÃO

Por meio do ensaio experimental, foi possível avaliar a reinfecção de camundongos (*Mus musculus*) da linhagem BALB/c com mesmo e diferente genótipo de *T. gondii*. A resposta imune desencadeada pela primo-infecção por *T. gondii* não foi capaz de induzir imunidade protetora a infecções futuras, tanto por cepas de mesmo genótipo da primo-infecção, como de diferente genótipo e diferentes concentrações de inóculo, pois foi possível detectar anticorpos IgM e IgG presentes na primo-infecção e na reinfecção em todos os grupos desafiados. Isto reafirma que a infecção por *T. gondii* não é capaz de imunizar contra infecções futuras, derrubando o paradigma de que este parasito induz imunidade protetora, ressaltando a importância nos grupos de risco como gestantes e imunocomprometidos, pois mesmo após a primo-infecção, os indivíduos podem se reinfecar em contato com cepas de mesmo ou diferente genótipo da primo-infecção.

5. FONTES DE FINANCIAMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

6. REFERÊNCIAS

[1] AJZENBERG, D.; BAÑULS, A. L.; SU, C.; DUMETRE, A.; DEMAR, M.; CARME, B. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, v. 34, p. 1185-1196, 2004.

[2] CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v.6, p.117-118, 1964.

[3] DZITKO, K.; STACZEK, P.; GATKOWSKA, J.; DLUGONSKA, H. *Toxoplasma gondii*: Serological recognition of reinfection. *Experimental Parasitology*, v. 112, p. 134-137, 2006.

[4] DUBEY, J. P. Tachyzoite-induced life cycle of *T. gondii* in cats. *Journal of Parasitology*, v. 88, n. 4, p. 713-717, 2002.

[5] DUBEY, J. P. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. *The Journal of eukaryotic microbiology*, v. 55, n. 6, p. 467-475, 2008.

[6] DUBEY, J.P.; LAGO, E.; GENNARI, S.; SU, C.; JONES, J.; Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: High

prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*, v. 139, n. 11, p. 1375-1424, 2012.

[7] DUNAY, I.R.; SIBLEY, L.D. Monocytes mediate mucosal immunity to *Toxoplasma gondii*. *Current Opinion in Immunology*, v. 22, n. 4, p.461-6, 2010.

[8] ELBEZ-RUBINSTEIN A.; AJZENBERG, D.; DARDÉ, M.L.; COHEN, R.; DUMÈTRE, A.; YERA, H.; GONDON, E.; JANAUD, J.C; THULLIEZ, P.; Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection and review. *The Journal Infectious Diseases*, v. 199 p. 280-285, 2009.

[9] FILISSETTI, D.; CANDOLFI, E.; Immune response to *Toxoplasma gondii*. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, v. 40, p. 71-80, 2004.

[10] GRIGG, M. E.; SUZIKI, Y.; Sexual recombination and clonal evolution of virulence in *Toxoplasma*. *Microbes and Infection*. v. 5, p. 685-690, 2003.

[11] JENSEN, K.D. C; CAMEJO, A.; MELO, M.B.; CORDEIRO, C.; JULIEN, L.; GROTENBRE, G.M; FRICKEL, E.; PLOEGH, H. L.; YOUNG, L.; SAEJI, J. P. J.; *Toxoplasma gondii* superinfection and virulence during secondary infection correlate with the exact ROP5/ROP18 allelic combination. *American Society for Microbiology*, v. 6, p. 02280-14, 2015.

[12] KOLOREN, Z.; DUBEY, J. P. A Review of Toxoplasmosis in Humans and Animals in Turkey. *Parasitology*, v. 147, p. 12–28, 2020.

[13] LIMA, T. S.; LODOEN, M. B. Mechanisms of Human Innate Immune Evasion by *Toxoplasma gondii*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 9, n. 103, 2019.

[14] MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O.; Toxoplasmosis. *The Lancet*, v. 363, p. 1965-1976. 2004.

[15] REMINGTON, J.S; MCLEOD, R.; DESMONTS, G.; Toxoplasmosis. *Infection diseases of the fetus and newborn infant*, v. 4, p.140-267, 1995.

[16] REZENDE, H. H. A.; IGREJA, J. A. S. L.; GOMES-JÚNIOR, A. R.; MELO, J. O.; GARCIA, J. L.; MARTINS, F. D. C.; STORCHILLO, H. R.; GOMES, T, C., VINAUD, M. C.; CASTRO, A. M. Molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens reveals new genotypes in Goiânia, Goiás, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 30, n. 2, 2021.

[17] REZENEZHAD, H.; SAYADI, F.; SHADMAND, E.; NASAB, S.D.M; YAZDI, H.R.; SOLHJOO, K.; KAZEMI, A.; MALEKI, M.; VASMEHJANI, A. A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among HIV Patients in Jahrom, Southern Iran. *Korean Journal Parasitology*, v. 55, n., p. 99–103, 2017.

[18] ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, M.L.; Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 25, n. 2, p. 264-296, 2012.

- [19] RORMAN, E.; ZAMIR, C. S.; RILKIS, I.; BEN-DAVID, H.; Congenital toxoplasmosis prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. **Reproductive Toxicology**, v.21, n. 4, p. 458-472, 2006.
- [20] SANTOS, T. C. C.; MEIRELES, L. R. Reinfecção experimental de camundongos BALB/c por cepas geneticamente distintas de *Toxoplasma gondii*. 2018. **Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2018.
- [21] SARAF, O.; SHWAB, E. K.; DUBEY, J. P.; SU, C. On the determination of *Toxoplasma gondii* virulence in mice. **Experimental Parasitology**, v.174, p. 25-30, 2017.
- [22] SERRANTI, D.; BUONSENSO, D.; VALENTINI, P. Congenital toxoplasmosis treatment. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 15, n. 2, p. 193-198, 2011.
- [23] SHAAPAN, R. M.; EL-NAWAWI, F.A.; TAWFIK, M.A.; Sensivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**. v. 153: 359-362, 2008.
- [24] SILVA, F. W. S., ALVES, N. D., AMÓRA S. S. A., TEXEIRA, F. H. V., ACCIOLY, M. P., CARVALHO, C. G., NÓBREGA, R. M., FILGUEIRA, K., DFEIJÓ, F. M. C. Toxoplasmose: uma revisão. **Ciência Animal**, v. 16, n. 2, p. 71-77, 2006.
- [25] SINHORINI, W.A.; SILVA, D.B.; LANGONI, H.; FERRARO, C.; MARTINS, R.R.; LOPES, W.D.Z.; Soroprevalência para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em ovinos pertencentes à microrregião de Umuarama, estado do Paraná, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24 p.151-158, 2017.
- [26] SILVEIRA, C.; FERREIRA, R.; MUCCIOL; NUSSENBLATT, R.; BELFORT, R. Jr.; Toxoplasmosis transmitted to a newborn from the mother infected 20 years earlier. **American Journal of Ophthalmol**, v. 136, p. 370-371, 2003.
- [27] SMITH, N. C.; GOULART, C.; HAYWARD, J. A.; KUPZ, A.; MILLER, C. M.; DOOREN, G. G. V. Control of human toxoplasmosis. **International Journal for Parasitology**, v. 51, p. 95-121, 2021.
- [28] STUTZ, A.; KESSLER, H.; MARIEL- ESTHER, K.; MEISSNER, M.; DALPKE, A. H.; Cell invasion and strain dependent induction of supressor of cytokine signaling-1 by *Toxoplasma gondii*. **Immunobiology**, v. 217, n.1 p. 28-36, 2012.
- [29] SU, C.; KHAN, A.; ZHOUC, P.; MAJUMDARA, D.; AJZENBERG, D.; DARDÉ, M.; ZHUF, X.; AJIOKAG, J. W.; ROSENTHAL, B. M.; DUBEY, J. P.; SIBLEY, L. D.; Globally diverse *Toxoplasma gondii* isolates comprise six major clades originating from a small number of distinct ancestral lineages. **Proceedings of the Nacional Academy of Sciences**, v. 109, n. 15, p. 5844-5849, 2012.
- [30] TALABANI, H.; MERGEY, T.; YEAR, H.; DELAIR, E.; BRÉZIN, A.P.; LANGSLEY, G.; DUPOUY-CAMET J. Factors of occurrence of ocular toxoplasmosis. A review. **Journal Parasite**, v. 17, n. 3, p. 177-182, 2010.
- [31] VALDÈS, V.; LEGAGNEUR, H.; WATRIN, V.; PARIS, L. HASCOET J.M.; Toxoplasmose congenital secondaire á une reinfection maternelle pendant la grossesse. **Archives de Pediatrie** v.18, p. 761-763, 2011.
- [32] VILLARD, O.; CIMON, B.; L'OLLIVIER, C.; FRICKER-HIDALGO, H.; GODINEAU, N.; HOUZE, S.; PARIS, L.; PELLOUX, H.; VILLENA, I.; CANDOLFI, E. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 84, n. 1, p. 22-33, 2016.
- [33] RODRIGUES, I. M. X.; CASTRO, A. M.; GOMES, M. B. F.; AMARAL, W. N.; AVELINO, M. M. Congenital toxoplasmosis: evaluation of serological methods for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgM and IgA antibodies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 3, 2009.