

ELIMINAÇÃO DE *TOXOPLASMA GONDII* PELA URINA DE CAMUNDONGOS DURANTE A FASE AGUDA DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL

R.J. ROCHA (1), W.L. TAFURI (2,3) & C.A. CHIARI (2)

RESUMO

Camundongos albinos heterogênicos da linhagem Swiss, foram experimentalmente infectados, via subcutânea, com taquizoítos de uma cepa de *Toxoplasma gondii* de baixa virulência. Todos morreram durante a fase aguda da infecção, entre 7 e 9 dias após a infecção (DAI). Demonstrou-se, utilizando a bioprova, que 80% dos animais eliminou *T. gondii* pela urina. Nos rins, observou-se, entre outras alterações, hemorragia intersticial intertubular e presença de hemácias íntegras nos espaços subcapsulares de Bowmann de alguns glomérulos. Discutiu-se sobre os possíveis mecanismos de eliminação de *T. gondii* na urina dos animais infectados. Analisou-se alguns aspectos relacionados com a eliminação de formas infectantes de *T. gondii* na urina destes animais e a transmissão da toxoplasmose na natureza.

UNITERMOS: *Toxoplasma gondii*; Urina; Camundongos; Rim.

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário com reprodução intracelular obrigatória, podendo ser encontrado nos exsudatos de organismos infectados⁹. A ocorrência de formas infectantes de *Toxoplasma* tem sido demonstrada em secreções e/ou excreções de vários hospedeiros, naturais ou experimentalmente infectados, tais como urina de cães²³, saliva de coelho³⁴, saliva humana^{1,4}, sêmen e leite de caprinos^{5,10,11} e urina de camundongos^{24,28,31}.

Os camundongos (*Mus musculus*) são animais sinantrópicos muito susceptíveis à infecção por *T. gondii*⁹ e já foi demonstrada a existência de associação significativa entre casos de infecção humana e sua presença no domicílio^{17,29}. Supõe-se que estes animais possam contribuir para a disseminação da toxoplasmose na natureza, mediante eliminação de formas infectantes do parasita pela urina, uma vez que taquizoítos de *T. gondii* podem permanecer viáveis na água entre 16 e 18°C por 48 horas¹⁶ e podem resistir até 18 dias à dessecação lenta entre 18 e 20°C³². Entretanto, a frequência de eliminação de formas infectantes do parasito pela urina desses animais não foi ainda avaliada. Com o objetivo de esclarecer esta pos-

sibilidade, foram utilizados como modelo experimental camundongos infectados, subcutaneamente, com uma cepa de baixa virulência de *T. gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez fêmeas de camundongos albinos da linhagem Swiss com aproximadamente um mês de idade, foram inoculadas por via subcutânea, com 0,15 ml de exsudato peritoneal (EP) contendo predominantemente taquizoítos intracelulares da cepa C4, obtido de camundongos 7 dias após a infecção (DAI). Esta cepa foi isolada de pulmão de cão em agosto de 1972 por JAMRA, L. M. F. do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, e pode ser considerada de baixa virulência, segundo critérios relacionados por OMATA et al.²⁷. Estes animais constituíram o grupo dos infectados.

Os animais infectados foram observados 4 vezes por dia para verificação da mortalidade. Estes animais foram também avaliados quanto à presença de:

(a) anticorpos anti-*Toxoplasma* em amostras de plasma obtidas 3 e 5 DAI, colhidas através do plexo orbital com pipeta Pasteur heparinizada. Os

(1) Dep. de Parasitologia, Inst. de Biologia, UNICAMP, CP 6109, 13081-970, Campinas, SP, Brasil.

(2) Dep. de Parasitologia, Inst. de Ciências Biológicas, UFMG, CP 2436, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

(3) Dep. de Ciências Biológicas, FOP, 35400-000, Ouro Preto, MG, Brasil.

anticorpos foram titulados em diluições seriadas na razão de 2, a partir da diluição inicial de 1/4, pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), executada segundo técnica descrita por CAMARGO³. Foi utilizado conjugado, anti-Ig total de camundongo, apresentando aproximadamente a relação fluoresceína/proteína de nove;

(b) formas infectantes de *T. gondii* em amostras de urina, obtidas diariamente, utilizando-se a prova de infectividade em camundongo normal (bioprova), como descrito por DUBEY & SHARMA¹⁰, com modificações, como segue. As amostras de urina foram colhidas em tubos de hemólise, por pressão externa da bexiga. Devido à variação do volume das amostras colhidas por animal e DAI (0.01 a 0.6 ml), acrescentou-se 1 ml de PBS estéril contendo 100 unidades de penicilina/ml e 100 µg de estreptomicina/ml. Cada amostra colhida foi inoculada isoladamente em um camundongo normal, via intraperitoneal. Todos os animais assim inoculados foram examinados quanto à possível infecção por *T. gondii*. Realizou-se pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma* no plasma destes animais obtidos 7, 15, 30 e 45 DAI com a RIFI. Nos animais sacrificados após 45 DAI ou que morreram durante o período de observação, efetuou-se pesquisa de formas proliferativas no EP (até 20 DAI) e/ou de cistos no cérebro. Macerados de cérebro, fígado e baço dos animais negativos foram inoculados em outro camundongo normal, que foi avaliado tal como o primeiro. Foram consideradas positivas as amostras que resultaram no encontro de taquizoítos no EP e/ou cisto no cérebro e/ou anticorpos anti-*Toxoplasma* em qualquer amostra de plasma;

(c) *Toxoplasma* no rim e bexiga realizando-se bioprova;

(d) histopatologia renal, realizando-se cortes de aproximadamente 5 µm, corados por Hematoxilina e Eosina (HE) e Ácido Periódico de Schiff (PAS).

Para realização dos itens (c) e (d), os animais que morreram foram rapidamente necropsiados e os rins cortados sagitalmente, sendo metade preservada em formol 10% tamponado (pH 7,2) até o processamento do material para exame histológico e a outra metade triturada em homogeneizador de tecido com PBS (pH 7,2) para a realização da bioprova.

Paralelamente foram constituídos 4 grupos controle, para determinar:

(1) **Infecção natural por *Toxoplasma* (C1):** Foi realizada a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma*, em amostras de sangue de 10% de todos os camundongos usados nos experimentos, procedentes do Biotério Central do Departamento Parasitologia, ICB-UFMG.

(2) **Influência da colheita de sangue sobre a mortalidade em animais normais (C2):** Foi coletado sangue de dez fêmeas de camundongos normais, nos mesmos dias do grupo experimental;

(3) **Influência da colheita de sangue e urina sobre a sobrevivência de camundongos normais (C3):** Foi feita a colheita de sangue e urina em dez fêmeas de camundongos normais, nos mesmos dias do grupo experimental;

(4) **Bioprova com urina de camundongos normais (C4):** Amostras de urinas colhidas dos animais do grupo C4 foram submetidas à bioprova em camundongos normais.

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o teste de significância Qui-Quadrado e as médias foram comparadas usando tabelas de contingência 2x2 para dados agrupados².

RESULTADOS

Todos os camundongos experimentalmente infectados com *Toxoplasma* morreram durante a fase aguda, entre 7 e 9 DAI. Oito dos dez camundongos infectados eliminaram *T. gondii* pela urina e as diferenças observadas na frequência de eliminação (Tabela 1), não foram estatisticamente significativas ($\chi^2 = 2,34$, $p > 0,05$). O número de camundongos com urina positiva para *T. gondii* não foi constante nos 8 dias de infecção e em dois (4 e 5 DAI), nenhum dos animais apresentava o parasita na urina (Tabela 2). Das 71 amostras de urina colhidas, 68 (95,8%) foram examinadas pela inoculação em camundongos, treze das quais (19,1%) estavam positivas.

Foi demonstrada, através da Bioprova, a presença de *Toxoplasma* nos rins dos 10 animais infectados e na bexiga de quatro deles (Tabela 3).

TABELA 1

Frequência e proporção de amostras de urina positivas para *Toxoplasma gondii*, colhidas de camundongos infectados com a cepa C4 de baixa virulência, determinada pela inoculação em camundongos.

Camundongos no.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
Amostras de urina	positivas	02	01	00	00	01	01	03	01	03	01	13
	colhidas e examinadas	06	07	07	07	06	06	08	05	08	08	68
Proporção de urinas positivas		0,33	0,14	0,00	0,00	0,17	0,17	0,38	0,20	0,38	0,13	0,19

TABELA 2

Frequência e proporção de camundongos com *Toxoplasma gondii* na urina, em dias consecutivos após a infecção experimental com a cepa C4 de baixa virulência, detectados pela inoculação em camundongos.

DAI	Nº de camundongos		Proporção de camundongos com <i>Toxoplasma gondii</i> na urina
	com <i>Toxoplasma gondii</i> na urina	examinados	
1	02	09 ^a	0,22
2	02	09 ^a	0,22
3	03	10	0,30
4	00	10	0,00
5	00	10	0,00
6	02	10	0,20
7	01	06 ^{b,c}	0,17
8	03	04 ^{c,d}	0,75

DAI - Dias após a infecção;

a - um camundongo da bioprova morreu sem ser examinado;

b - dois camundongos mortos;

c - um camundongo vivo não urinou;

d - três camundongos mortos.

TABELA 3

Parasitismo de rins e bexiga, de camundongos experimentalmente infectados com a cepa C4 de *Toxoplasma gondii* de baixa virulência, detectado pela inoculação em camundongos.

Órgãos	Camundongos (números)										Total pos
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	
Rins	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	10
Bexiga	Neg	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Pos	04

Pos = positivo

Neg = negativo

Os camundongos dos grupos C2 e C3 não morreram durante o período de observação, e os resultados da bioprova da urina dos animais normais (grupo C4) foram negativos.

A análise da histopatologia dos rins revelou as seguintes alterações: congestão e edema da cortical e da medular, hemorragias moderadas ou intensas, intersticiais intertubulares (recentes e/ou antigas), de aspecto estrelado, tanto da cortical quanto da medula (Fig. 1A). Em alguns animais foi possível observar focos hemorrágicos justaglomerulares, intersticiais intertubulares na cortical e hemorragia discreta, não sistematizada de alguns

glomérulos, com presença de hemácias íntegras nos espaços subcapsulares de Bowmann (Fig. 1B). Alguns glomérulos apresentaram ainda, espessamento da matriz mesangial, acompanhado, em alguns casos, de proliferação endotelial com redução da luz capilar. Em um dos camundongos foi observada necrose focal da cortical (Fig. 2A) e presença de agrupamento de taquizoítos em um glomérulo (Fig. 2B). Não foi possível detectar parasitismo tecidual em nenhum dos outros rins examinados. A arquitetura tubular estava, em geral, preservada com discreta degeneração albuminosa de alguns túbulos.

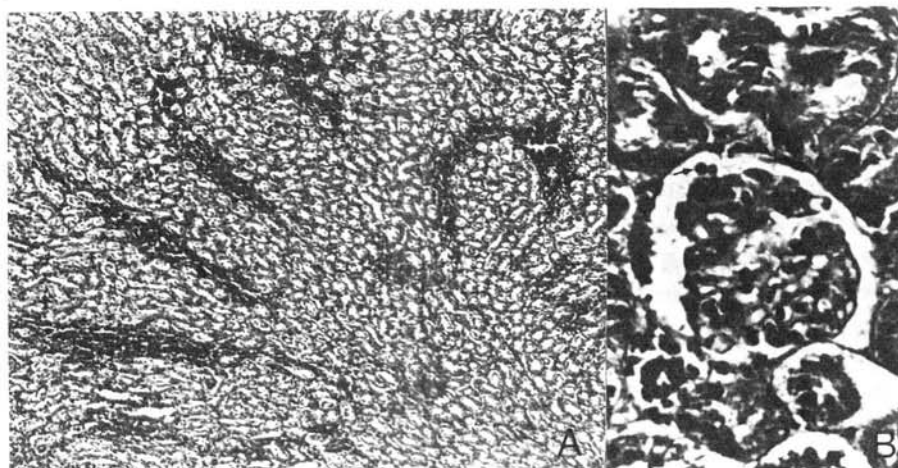


Fig. 1 - Camundongo infectado pela via subcutânea com taquizoítos de *Toxoplasma gondii* cepa C4 de baixa virulência. A - Hemorragias intersticiais intertubulares na cortical e medular, recentes ou antigas, de aspecto estrelado. HE 50x. B - Presença de hemácias íntegras (seta) no espaço subcapsular de Bowmann. HE 320x.

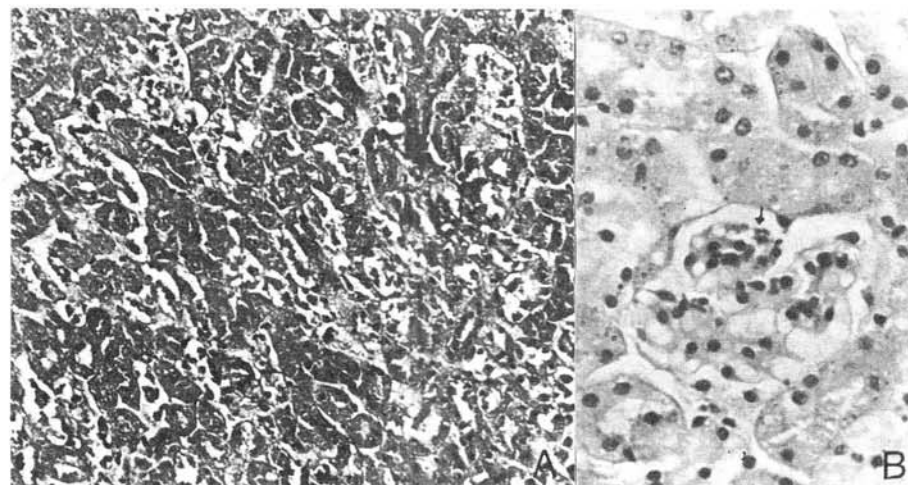


Fig. 2 - Camundongo infectado pela via subcutânea com taquizoítos de *Toxoplasma gondii* da cepa C4 de baixa virulência. A - Necrose tubular focal à esquerda, ao lado de tecido renal ainda parcialmente preservado. HE 128x. B - Glomérulo com dilatação das alças capilares e presença de parasitos (seta) no citoplasma de uma provável célula endotelial. PAS 320x.

A pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma* pela RIFI foi negativa nos animais infectados com a cepa C4 de *T. gondii*.

DISCUSSÃO

A proporção de animais que estava eliminando *T. gondii* pela urina foi alta (0,80), e ainda pode estar sendo subestimada, uma vez que resultados negativos não excluem a possibilidade do material submetido à bioprova ser positivo¹⁵. Além disso, os rins de todos os animais apresentaram bioprova positiva (Tabela 3), o que sugere igual probabilidade de eliminar formas do parasito na urina.

Alguns animais infectados não urinaram nos 6 e 7 DAI (Tabela 2) ou o volume urinário estava muito abaixo do volume eliminado pelos animais do grupo C3 (dados não mostrados). Nesse período da infecção, observou-se um aumento do volume do exsudato peritoneal dos camundongos infectados (dados não mostrados) o que, provavelmente, interferiu no volume da urina excretado. Fato semelhante foi relatado por MAS BAKAL & VELD²⁵, que obtiveram menor volume de soro de camundongos infectados experimentalmente, em presença de grande volume de exsudato peritoneal e/ou pleural.

Não foi possível detectar anticorpos circulantes no sangue dos animais infectados aos 3 e 5 DAI, utilizando a RIFI. Segundo HANDMAN & REMINGTON²⁰, anticorpos anti-*Toxoplasma* da classe IgG só são revelados pela RIFI, a partir de 8 DAI em camundongos experimentalmente inoculados com *T. gondii*. Não se pode entretanto excluir a possibilidade de infecção por *T. gondii* na ausência de anticorpos anti-*Toxoplasma*, como já foi observado anteriormente em infecções naturais e experimentais^{8,12,33}.

A ocorrência de congestão e hemorragia difusa nos rins de animais experimentalmente infectados com *T. gondii* não havia sido descrita anteriormente. A congestão renal destes animais por si só não determina a formação de trombos, mas aliada a fatores como lesões do endotélio e alterações da crase sanguínea, já relacionadas à infecção por *T. gondii*^{7,14,18,33}, poderia levar a esta alteração e conseqüentemente à necrose tal como foi observada. O espessamento da matriz mesangial e a proliferação endotelial com redução da luz capilar, já foram descritos e associados à deposição de complexo antígeno-anticorpo^{21,30}.

Lesões renais foram descritas em casos de toxoplasmose humana, congênita^{26,30,36} e adquirida^{18,19}, sendo no entanto, consideradas raras^{14,36}. A ocorrência de lesões renais parece fenômeno comum na infecção por *T. gondii*, pelo menos na toxoplasmose murina, uma vez que lesões renais em diferentes graus foram observadas em todos os animais examinados. É possível que o tipo de lesão esteja relacionada com a fase da infecção ou com a virulência da cepa.

A eliminação de formas infectantes do *Toxoplasma* na urina de camundongos durante a fase aguda da infecção, poderia ser explicada pelo rompimento de células parasitadas com formas proliferativas do parasito no endotélio glomerular (Fig. 2B) ou nos túbulos renais conforme descrito por MILLER et al²⁶. Embora a presença do parasita só tenha sido observada na preparação histológica do rim de um dos animais (Fig. 2B), as bioprovvas dos rins de todos os animais infectados foram positivas (Tabela 3). De fato as formas proliferativas de *T. gondii* não são facilmente observadas em colorações comumente utilizadas em microscopia ótica, mesmo quando presentes⁶. Por outro lado, a parasitemia, comum na fase aguda da infecção²⁵, poderia estar contribuindo para a eliminação de taquizoítos, uma vez que hemácias íntegras (2,2 x 7,2 μ m) foram observadas nos espaços subcapsulares de Bowmann, e possuem dimensões aproximadas de um taquizoíto de *T. gondii* (2 x 6 μ m). A parasitemia deve ter concorrido para a alta positividade da bioprova dos rins (Tabela 3).

A presença de formas infectantes de *T. gondii* na urina, deve interferir nos resultados de testes imunológicos para demonstração de antígenos do parasita na urina de hospedeiros infectados, que já tem sido utilizados^{13,22}. Por outro lado, nossos dados sugerem que camundongos na fase aguda da infecção por *T. gondii*, podem contribuir para a disseminação da toxoplasmose na natureza pelo contato direto da urina contaminada com mucosas e solução de continuidade na pele de outros animais. Outra alternativa seria a contaminação de alimentos com a urina de camundongos na fase aguda da infecção por *T. gondii*, uma vez que estes animais eliminam formas infectantes do parasita pela urina com freqüência elevada, e estas permanecem viáveis no ambiente por um período suficiente^{16,32} para permitir a infecção de outros animais e mesmo do homem.

SUMMARY

Presence of *Toxoplasma gondii* in the urine of mice experimentally infected.

Toxoplasma gondii tachizoites from an avirulent strain, were used to subcutaneously infect mice (Swiss outbred strain). All died 7 to 9 days after infection (DAI) during acute phase infection. Eighty per cent eliminated *T. gondii* forms by urine. This was determined through infectivity test in normal mice (bioprove). Interstitial intertubular hemorrhage were the more frequently observed lesion in renal histology. Whole erythrocytes could also be seen in some glomerular Bowman's subcapsular space. *T. gondii* elimination mechanism is discussed, together with the relationship between these observations and natural toxoplasmosis transmission.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Paul Williams pela revisão do resumo em inglês e aos laboratoristas Rosálda Estevam Nazar e José Luis de Faria, pela ajuda técnica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMENDOEIRA, M.R.R. & COUTINHO, S.G. - Isolation of *Toxoplasma gondii* from the saliva and tonsils of a three-year-old child. *J. infect. Dis.*, 145: 587, 1982.
2. ARMITAGE, P. - Comparison of several groups. In: ARMITAGE, P. *Statistical Methods in Medical Research*. 2 ed. London, Blackwell Scientific Publications, 1973. cap. 7, p. 189-216.
3. CAMARGO, M. - Estudo comparativo das reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta para toxoplasmose em 1000 soros humanos, comportamento anômalo de alguns soros. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 24: 1-26, 1964.
4. CATHIE, J.A.B. - *Toxoplasma* adenopathy in a child with isolation of the parasite. *Lancet*, 2: 115-116, 1954.
5. CHIARI, C.A. & NEVES, D.P. - Toxoplasmose humana adquirida através de ingestão de leite de cabra. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79: 337-340, 1984.
6. CONLEY, F.K. & JENKINS, K.A. - Immunohistological study of the anatomic relationship of *Toxoplasma* antigens to the inflammatory response in the brains of mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Infect. Immun.*, 31: 1184-1192, 1981.
7. CONLEY, F.K.; JENKINS, K.A. & REMINGTON, J.S. - *Toxoplasma gondii* infection of the central nervous system. Use of the peroxidase-antiperoxidase method to demonstrate *Toxoplasma* in formalin fixed, paraffin embedded tissue sections. *Human Path.*, 12: 690-698, 1981.
8. DEANE, M.P. & NUSSENZWEIG, R.S. - Observations on the diagnosis of chronic *Toxoplasma* infection in mice. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 1: 119-128, 1959.
9. DUBEY, J.P. - *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Besnoitia*, *Sarcocystis* and other tissue cyst-forming coccidia of man and animals. In: KREIR, J.P., ed. *Parasitic Protozoa*. New York, Academic Press, 1977. v. 3, p. 101-237.
10. DUBEY, J.P. & SHARMA, S.P. - Prolonged excretion of *Toxoplasma gondii* in semen of goats. *Amer. J. vet. Res.*, 41: 794-795, 1980.
11. DUBEY, J.P.; SHARMA, S.P.; LOPES, C.W.G.; WILLIAMS, J.F.; WILLIAMS, C.S.F. & WEISBRODE, S.E. - Caprine toxoplasmosis: abortion, clinical signs, and distribution of *Toxoplasma* in tissues of goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Amer. J. vet. Res.*, 41: 1072-1076, 1980.
12. EYLES, D.E. - *Toxoplasma* in the norway rat. *J. Parasit.*, 38: 226-229, 1952.
13. FACHADO, A.; LONTE, L.; ROJAS, L.; ALBERTI, E. & MACHIN, R. - Technique for the detection of *Toxoplasma gondii* antigens in mouse urine. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 85: 65-68, 1990.
14. FRENKEL, J.K. - Pathology and pathogenic mechanisms in tissue infections. In: METTRICK, D.F. & DESSER, S.S. *Parasites. Their world and ours*. Amsterdam, Elsevier Biomedical Press, 1982. p. 258-266.
15. GALUZO, I.G. - Diagnosing toxoplasmosis of animals. In: FITZGERALD, P.R. *Toxoplasmosis of animals*. Urbana, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, 1970a. p. 314-345.
16. GALUZO, I.G. - The epizootiology of toxoplasmosis. In: FITZGERALD, P.R. *Toxoplasmosis of animals*. Urbana, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, 1970b. p. 395-413.
17. GIBSON, C.L. & EYLES, D.E. - *Toxoplasma* infections in animals associated with a case of human congenital toxoplasmosis. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 6: 990-1000, 1957.
18. GUIMARÃES, F.N. - Toxoplasmose humana. Meningoencefalomielite toxoplásmica: ocorrência em adulto e recém nascido. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 38: 257-321, 1943.
19. GUINARD, J.P. & TORRADO, A. - Interstitial nephritis and toxoplasmosis in a 10-year-old child. *J. Pediat.*, 85: 381-382, 1974.
20. HANDMAN, E. & REMINGTON, J. - Antibody responses to *Toxoplasma* antigens in mice infected with strains of different virulence. *Infect. Immun.*, 29: 215-220, 1980.
21. HULDT, G. - Studies on experimental toxoplasmosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 177: 146-155, 1971.

22. HUSKINSON, J.; STEPICK-BIEK, P. & REMINGTON, J.S. - Detection of antigens in urine during acute toxoplasmosis. **J. clin. Microbiol.**, 27: 1099-1101, 1989.
23. JACOBS, L; MELTON, M.L. & COOK, M.K. - Observations on Toxoplasmosis in dogs. **J. Parasit.**, 41: 353-361, 1966.
24. LAVEN, H. & WESTPHAL, A. - Die übertragung von *Toxoplasma gondii* unter besonderer berücksichtigung des blutes als infektions quelle. **Z. Tropenmed. Parasit.**, 2: 221-235, 1950 apud GALUZZO, I.G. The epizootiology of toxoplasmosis. In: FITZGERALD, P.R. **Toxoplasmosis of animals**. Urbana, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, 1970. p. 395-413.
25. MAS BAKAL, P. & VELD, N. - Demonstration of circulating antigen, antibody and parasitaemia after experimental *Toxoplasma* infection in mice. **Acta Leidensia**, 47: 37-44, 1979.
26. MILLER, M.J.; SEAMAN, E. & REMINGTON, J.S. - The clinical spectrum of congenital toxoplasmosis: problems in recognition. **J. Pediat.**, 70: 714-723, 1967.
27. OMATA, Y.; NISHIMOTO, N.; RAMOS, M.I.; YANO, K. & NAKABAYASHI, T. - Virulence of *Toxoplasma gondii* (RH - cyst III strain) cultured in mouse embryo cells. **Jap. J. Parasit.**, 36: 179-182, 1987.
28. PIEKARSKI, G. & WITTE, H.M. - Die toxoplasmose, Reine zoonose. **Landarzt**, 44: 1052-1058, 1968 apud APT, W.; NIEDMANN, G.; PASMNIK, S. & THIERMANN, E. Epidemiologia. In: APT, W.; NIEDMANN, G.; PASMNIK, S. & THIERMANN, E. **Toxoplasmosis**. Chile, Santiago, Universidad de Chile, 1973. Cap. 3, p. 49-61.
29. RUIZ, A. & FRENKEL, J. K. - Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. **Amer. J. trop. Med. Hyg.**, 29: 1161-1166, 1980.
30. SHAHIN, B.; PAPADOPOULOU, Z.L. & JENIS, E.H. Congenital nephrotic syndrome associated with congenital toxoplasmosis. **J. Pediat.**, 85: 366-370, 1974.
31. SHEVKUNOVA, YE.A. & GENERALOVA, Z.N. - Towards the question as to the excretion of toxoplasmae from the organism of a sick animal. **Med. Parazit. (Mosk.)**, 32: 451-454, 1963 apud GALUZZO, I.G. The epizootiology of toxoplasmosis. In: FITZGERALD, P.R. **Toxoplasmosis of animals**. Urbana, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, 1970. p. 395-413.
32. SLOWAKIEWICZ, E. & STARZYK, J. - Investigations on the survival of protozoans *Toxoplasma gondii* under conditions of slow drying. **Acta biol. Cracoviensia**, 13: 251-256, 1970.
33. STAHL, W.; TUREK, G. & GAUFAR, H. - Effects of heterologous antithymocyte serum on *Toxoplasma gondii* infections in mice. I. Potentiation of primary, nonlethal infection. **Jap. J. Parasit.**, 27: 231-278, 1978.
34. TERRAGNA, A.; QUAGLIA, A.C.; MORANDI, N.; CANESSA, A.; PELLEGRINO, C.; BORASI, F. & BARBIERI, A. - Isolamento del *Toxoplasma gondii* dalla saliva. Ricerca sperimentale. **Ann. Sclavo**, 23: 477-485, 1981.
35. WEINMAN, D. & CHANDLER, A. - Toxoplasmosis on swine and rodents. **Proc. Soc. exp. Biol. Med.**, 87: 211-216, 1954.
36. WICKBOM, B. & WINBERG, J. - Coincidence of congenital toxoplasmosis and acute nephritis with nephrotic syndrome. **Acta paediat. scand.**, 61: 470-472, 1972.

Recebido para publicação em 26/12/1991
Aceito para publicação em 3/5/1993