



## Ocorrência de anticorpos para *Leptospira* spp e *Toxoplasma gondii* em animais silvestres cativos no Parque Zoológico de Petrolina, PE, Brasil

Josenilton Rodrigues Santos<sup>1,2</sup>, Rafael Damasceno Fernandes Coelho<sup>2</sup>, Sandra Geisa Costa Albano<sup>1</sup>, Deborah Letícia Rodrigues Silva<sup>2</sup>, Herbert Sousa Soares<sup>3</sup>, Liliane Moreira Donato Moura<sup>2</sup>, Matheus Burilli Cavallini<sup>3</sup>, Marcos Bryan Heinemann<sup>4</sup>, Solange Maria Gennari<sup>3,4</sup>, Hilda Fátima Jesus Pena<sup>4</sup>, Mauricio Claudio Horta<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 72º Batalhão de Infantaria Motorizado, Petrolina, PE, Brasil. <sup>2</sup> Universidade Federal do Vale do São Francisco, Univasf, Petrolina, PE, Brasil. <sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina e Bem-Estar Animal, Universidade Santo Amaro, São Paulo, SP, Brasil. <sup>4</sup> Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil

### RESUMO

#### OBJETIVO

A leptospirose e a toxoplasmose são zoonoses cosmopolitas que afetam animais domésticos e selvagens, que podem habitar ambientes urbanos e atuar como reservatórios de agentes infecciosos, aumentando o risco de transmissão de doenças zoonóticas ao homem. O presente estudo teve como objetivo detectar anticorpos séricos para *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro do Parque Zoológico, localizado na cidade de Petrolina, Estado de Pernambuco, Brasil.

#### MÉTODOS

As amostras foram coletadas de animais selvagens, incluindo 12 mamíferos, 26 aves e 33 répteis. Diagnóstico sorológico para detecção de anticorpo anti-*T. gondii* foi realizado em aves e mamíferos usando o teste de aglutinação modificado (MAT Toxo). Anticorpos anti-*Leptospira* spp. foram detectados em répteis e mamíferos, pelo teste de soroaglutinação microscópica (MAT Lepto).

#### RESULTADOS

A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* foi de 56,4% (22/39), com animais positivos dos gêneros: *Procyon cancrivorus* (1/2), *Ara ararauna* (4/4), *Patagioenas picazuro* (5/5), *Amazona aestiva* (5/5), *Aratinga acuticaudata* (3/3), *Tayassu tajacu* (2/2), *Nasua nasua* (1/1) e *Cercopithecus thomasi* (1/1). Anticorpos anti-*Leptospira* spp. foram detectados em 4,4% (2/45) dos animais sendo em um dos dois *Tamandua tetradactyla*, que foi positivo ao sub-grupo *Australis* e em um dos 23 *Geochelone carbonaria*, positivo ao sub-grupo *Hebdomadis*.

#### CONCLUSÕES

Animais silvestres mantidos em cativeiro de zoológicos podem participar do ciclo de vida desses agentes, atuando como reservatórios, assumindo papel importante na cadeia epidemiológica dessas importantes zoonoses.

#### DESCRITORES

Leptospirose, Toxoplasmose, Zoológico, Zoonoses, Medicina veterinária de conservação.

#### Corresponding author:

Mauricio Claudio Horta.

Laboratório de Doenças Parasitárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Univasf, Campus Ciências Agrárias. Rodovia BR 407, km 12, Lote 543, Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n, CEP: 56300-990 Petrolina, PE, Brasil.

E-mail: [horta.mc@hotmail.com](mailto:horta.mc@hotmail.com)

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3834-839893>

**Copyright:** This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons

Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original author and source are credited.

## INTRODUÇÃO

A atual situação global e os problemas ambientais causados por ações antropogênicas, têm efeitos negativos na biodiversidade<sup>1</sup>. Os zoológicos atuam como uma solução atraindo o público, os zoológicos modernos são utilizados como instrumentos educativos, sensibilizando as pessoas para procurarem uma mudança de comportamento, visando promover a conservação da diversidade biológica<sup>1,2</sup>. Os animais selvagens mantidos em jardins zoológicos são susceptíveis a vários desequilíbrios ambientais, e estão em contacto com outras espécies animais selvagens, domésticas, e sinantrópicas<sup>3</sup>. Os animais selvagens que vivem no ambiente urbano podem atuar como reservatórios de agentes infecciosos. Como os parques zoológicos estão geralmente localizados em áreas urbanas, é possível a propagação de agentes infecciosos de animais selvagens em vida livre para outros animais em cativeiro<sup>4</sup>.

A Leptospirose, causada por bactérias do gênero *Leptospira*, é considerada uma zoonose de distribuição mundial com várias espécies animais selvagens consideradas reservatórios para a sua propagação<sup>5</sup>. A *Leptospira* spp. penetra através da pele intacta ou danificada nas mucosas e multiplica-se no sangue, praticamente em todos os órgãos e tecidos<sup>6</sup>. Os roedores são reservatórios principais, as bactérias multiplicam-se normalmente nos rins, fazendo da urina a principal fonte de eliminação, contaminando a água, o solo e os alimentos<sup>7</sup>.

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, um parasita intracelular obrigatório, com distribuição mundial<sup>8</sup>. O protozoário tem um ciclo sexual que ocorre em felinos (hospedeiros definitivos) e um ciclo assexuado em aves e mamíferos, incluindo humanos, como hospedeiros intermediários<sup>9</sup>. *T. gondii* apresenta taquizoítos, bradizoítos, e oocistos como formas infecciosas<sup>10</sup>. Os hospedeiros carnívoros ou onívoros, incluindo humanos, são potencialmente infectados por bradizoítos na carne, oocistos esporulados em água ou alimentos contaminados, ou intrauterinos por taquizoítos<sup>11,12</sup>. Os herbívoros podem ser infectados pelos oocistos no solo, água, ou vegetais não cozidos<sup>13</sup>. Atualmente, os estudos sobre a cadeia de transmissão da zoonose incluem não só animais domésticos, mas também animais selvagens<sup>14</sup>. Os animais selvagens desempenham papel importante como reservatórios ou portadores destas doenças na natureza e em cativeiro<sup>15</sup>, contudo, poucas investigações sorológicas foram realizadas em animais que se encontram em cativeiro, incluindo os que se encontram em jardins zoológicos, reprodução e centros de investigação<sup>16,17,18,19</sup>. Assim, o presente estudo objetivou realizar levantamento sorológico de *Leptospira* spp. e *T. gondii* em animais selvagens do Parque Zoobotânico, Petrolina, Pernambuco, PE, Brasil.

## MÉTODOS

### Localização do estudo

O estudo foi realizado no Parque Zoobotânico do 72º Batalhão de Infantaria Motorizado, localizado no município de Petrolina (S 09° 23' 79", W 40° 28' 86"), PE, Nordeste do Brasil. Criado em 2007, este é o único Parque Zoobotânico da região do Médio São Francisco, ocupando uma área de 10.000 m<sup>2</sup>. O plantel é composto por 135 animais provenientes de apreensões, realizadas pelo Instituto Brasileiro do Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), polícia militar, capturados pelos bombeiros das cidades de Petrolina (Estado de Pernambuco) e Juazeiro (Estado da Bahia). Aproximadamente 90% das espécies são do Bioma Caatinga, e 10% são espécies de outros biomas brasileiros. Os recintos são construídos em alvenaria e telas de aço em conformidade com a Instrução Normativa do IBAMA, utilizando árvores altas para reduzir a

temperatura no ambiente. O Zoológico também serve como fonte de lazer para as comunidades das cidades circundantes e contribui decisivamente para a educação ambiental de pessoas de todas as idades, ajudando na formação de combatentes do exército da Caatinga.

### Coleta de sangue

Foram obtidas amostras de sangue de 70 espécimes animais de diferentes classes: aves, répteis, e mamíferos, divididos em 24 espécies. Dois animais sinantrópicos encontrados no local durante a coleta das amostras foram incluídos neste estudo, sendo um gambá (*Didelphis albiventris*) e um rato preto (*Rattus rattus*), totalizando 72 animais amostrados.

A coleta das amostras foi realizada em três visitas, atendendo as classes de aves, répteis e mamíferos. Para o procedimento, foi realizada uma contenção física e/ou química com a ajuda de redes, redes de mão, luvas de raspa de couro, e gaiola de prensagem de acordo com a espécie. O acesso de escolha para a coleta de sangue, tamanho da agulha e seringas, bem como a quantidade de sangue coletado, foi baseado na espécie e massa corporal de cada animal.

As amostras de sangue foram armazenadas em tubos com anticoagulantes, homogeneizadas, identificadas, refrigeradas, embaladas em caixas de isopor, e enviadas para o laboratório onde foram centrifugadas a 5.000g durante 15min para obtenção do plasma, que foi subsequentemente transferido para microtubos de 1,5mL e armazenado a -20°C até à realização dos testes sorológicos.

### Deteção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*

O exame sorológico pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT Toxo) foi realizado em amostras de aves e mamíferos seguindo o protocolo de Dubey e Desmonds<sup>20</sup>.

Os soros foram diluídos utilizando uma solução tamponada (PBS, pH 7,2). Foram inicialmente realizadas diluições em série de 1:25, 1:50, e 1:500. Os soros dos animais com títulos maiores ou iguais a 50 foram novamente diluídos em série duas vezes até atingirem o título de reação máximo. Depois, 150 µL de taquizoítos de *T. gondii*, fixados em formalina, foram misturados com 2,5mL de PBS (pH 8,5), 35 µL de mercaptoetanol 0,2 M, e 50 µL de Evans Blue 0,2%; 25 µL desta solução de reação foram distribuídos em cada poço de uma microplaca de 96 poços com um fundo em forma de U. Em sequência, os soros diluídos foram transferidos para esta microplaca e homogeneizados com os reagentes. A placa foi selada com plástico adesivo para evitar a evaporação e incubada durante a noite a 37 °C. A leitura foi realizada de acordo com Desmots e Remington<sup>21</sup>.

### Deteção de aglutininas anti-*Leptospira* spp

Foi realizado o teste microscópico de soroaglutinação (MAT Lepto), como recomendado<sup>22, 23</sup>. Para realizar o MAT Lepto, foram utilizadas culturas vivas de *Leptospira* spp. com cada sorogruppo. As culturas foram semeadas em meio líquido EMJH modificado<sup>24</sup>, suplementadas com 15% de soro de coelho estéril, depois inativadas por um processo térmico a 30 °C durante 30min, e enriquecidas com uma mistura de 1% de piruvato de sódio, 1% de cloreto de cálcio, 1% de cloreto de magnésio, e 3% de L- asparagina. As culturas foram incubadas a 28 °C numa incubadora bacteriológica durante um período de 7-10 dias.

Cada amostra de soro foi diluída 1:50 em solução salina tamponada de Sorensen. A partir desta diluição, 50µL foi distribuído numa microplaca inferior em forma de U de 96 poços, com 50µL de cada antígeno correspondente adicionado para se obter uma nova diluição 1:100. Todas as amostras foram testadas com uma bateria antigênica de 24 variantes sorológicas (sorovares).

As microplacas foram agitadas e incubadas a 28 °C durante 3h numa incubadora bacteriológica. A reação foi lida num microscópio óptico (Jena Zeiss) com um condensador de campo escuro (MCE), operado com uma objetiva (Epiplan) 20x /0,2 e ocular 10 a 200x magnificação para avaliar o grau de aglutinação.

### Aspectos éticos

Este projeto seguiu os Princípios Éticos do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA (protocolo nº 2611.2394/2009-PE) e o Comitê de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal do Vale do São Francisco (protocolo nº 0021/220515).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio de questionários aplicados pela administração do Parque Zoológico, verificou-se que dos 72 animais utilizados na coleta de amostras, 64 foram capturados pelo IBAMA, seis pelo Corpo de Bombeiros, e dois foram apreendidos pela polícia militar local. Estes animais receberam uma dieta baseada em frutas e vegetais obtidos no Centro de Abastecimento (CEASA), na cidade de Juazeiro, Bahia. A carne foi doada pela Vigilância Sanitária e as vísceras do Matadouro Municipal. Os cereais foram obtidos a partir de armazéns locais. O processamento destes alimentos foi realizado por profissionais treinados que cumpriam os requisitos sanitários, e a água oferecida a estes animais era potável. Foi observada a presença de animais domésticos, tais como cães e gatos, bem como de animais sinantrópicos, nas instalações do Parque. Dois animais sinantrópicos, um *Didelphis albiventris* e um *Rattus rattus* foram capturados e incluídos neste estudo.

A infecção e propagação de agentes patogênicos nos jardins zoológicos pode envolver animais em cativeiro, animais sinantrópicos, funcionários, e o público visitante<sup>25</sup>. Alguns estudos sorológicos demonstraram o envolvimento de espécies selvagens na epidemiologia da leptospirose e toxoplasmose, mas as populações em cativeiro de animais selvagens são pouco estudadas, particularmente no Brasil.

O Bioma Caatinga tem uma fauna adaptada a condições climáticas desafiadoras, resultando num ambiente com elevada taxa de endemismo<sup>26</sup>. Os animais selvagens são amplamente utilizados nesta região para subsistência (alimentação), reprodução (animais de estimação), e mesmo para usos medicinais e religiosos<sup>27,28</sup>. Ocorrendo exclusivamente no Brasil, este bioma tem a sua principal área localizada na região Nordeste, apresentando um pequeno trecho na porção norte do estado de Minas Gerais, com um clima semiárido, apresentando menos de 800 mm de precipitação anual, totalizando 734.000 km<sup>29</sup>. Na Caatinga, a degradação ambiental é intensa<sup>30</sup>, particularmente em ambientes florestais ribeirinhos onde a vegetação é frequentemente removida para estabelecer áreas agrícolas, principalmente irrigadas.

O município de Petrolina, PE, na região semiárida brasileira, Vale do São Francisco, representa um município de tamanho médio num ambiente degradado, favorecendo a circulação de *T. gondii*<sup>31</sup>. A circulação de *Leptospira* spp. em animais selvagens e de vida livre já foi relatada em áreas rurais do município<sup>32</sup>.

No presente estudo, a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. nos animais foi de 4,4% (2/45). Um dos 12 mamíferos (8,3%) e um dos 33 répteis (3,0%) examinados eram reagentes (Tabela 1). O mamífero *Tamandua tetradactyla* (Tamanduá de colarinho) foi positivo para o subgrupo Australis e o réptil *Geochelone carbonaria* (Jabuti-piranga) para o subgrupo Hebdomadis, representando os sorovares mais prováveis Australis e Hebdomadis, respectivamente.

Um estudo sorológico da leptospirose em répteis, aves e mamíferos é de importância fundamental porque a informação

escassa sobre o comportamento da doença não está disponível nestas espécies. Utilizando estudos sorológicos, é possível verificar se estes animais tiveram contato com a leptospirose e se houve uma multiplicação do agente no organismo. Contudo, o tipo de resposta imunológica que desenvolvem não é conhecido, nem se a padronização da leptospirose MAT é validada para eles, pelo que os resultados encontrados, mesmo com títulos baixos, são essenciais<sup>3</sup>.

Os poucos estudos realizados com o grupo de répteis apon-taram para seu possível papel como reservatórios de leptospirose e mostraram que mesmo os animais saudáveis tinham anticorpos anti-*Leptospira* spp<sup>33</sup>. A predominância de baixos anticorpos anti-*Leptospira* spp. tem sido associada a infecções em répteis<sup>34,35,36</sup>. No entanto, Fornazari<sup>37</sup> destaca a escassez de estudos sobre a presença de anticorpos e a falta de informação sobre o papel dos répteis na transmissão do agente. No Brasil, a detecção de DNA em tartarugas<sup>36</sup> e cobras<sup>35</sup> tem sido relatada.

No presente estudo, um espécime de Jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) reagiu ao sorovar Hebdomadis; esta é a terceira descrição sobre esta espécie. Silva et al<sup>3</sup> realizaram um levantamento sorológico para leptospirose na cidade de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil, em exemplares da Família Testudinidae, e encontraram oito reagentes *G. carbonaria* (29/08) para os sorovares Patoc (08/05), Hebdomadis (08/02), e Canicola (01/08). Outro trabalho também realizado por Esteves et al<sup>38</sup> em *Geochelone* spp., analisou 16 amostras e encontrou apenas um positivo para o sorovar Andamana.

Outra espécie que reagiu aos anticorpos anti-*Leptospira* foi *Tamandua tetradactyla* (Tamanduá de colarinho) para o sorovar Australis. Anteriormente, Souza Júnior et al<sup>39</sup> e Lilienbaum et al<sup>40</sup>, respectivamente nos Estados do Tocantins e Rio de Janeiro, Brasil, reportaram o sorovar Icterohaemorrhagiae para esta espécie animal.

Os resultados da avaliação do MAT Lepto corroboram o estudo realizado no Jardim Zoológico de Chapultepec, na Cidade do México, onde os sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, e Hebdomadis, representando os grupos Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, e Hebdomadis foram descritos<sup>41</sup> e diferiram das descobertas de Brasil et al<sup>14</sup>, com a fauna cativa do Parque Zoológico Arruda Câmara, na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil, no qual apenas uma Jaguatirica (*Leopardus pardalis*) dos 49 animais examinados, foi soropositiva para sorovar Icterohaemorrhagiae.

Corrêa et al<sup>42</sup> realizaram um levantamento sorológico para leptospirose em 302 animais em cativeiro no Zoológico do Município de São Paulo, Brasil, e 59 (19,5%) eram reagentes para o MAT Lepto. Também, no estado de São Paulo, em animais selvagens no Zoológico Municipal de Ribeirão Preto, foram analisadas 388 amostras, e os sorovares mais frequentemente encontrados foram Patoc, Andamana, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Panamá<sup>3</sup>. Das 388 amostras, foram coletados 339 soros de animais em cativeiro e 92 (27,1%) foram reagentes, tendo sido encontrados sorovares Patoc, Andamana, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Panamá. Os outros 49 soros coletados de animais de vida livre e 11 (22,4%) foram reagentes, apresentando os sorovares Patoc, Autumnalis, Copenhageni, Pyrogenes e Australis.

A Tabela 1 mostra as espécies de aves e mamíferos positivos para os anticorpos anti-*T. gondii*. Dos 39 animais analisados, 21 (53,8%) eram sororeagentes, correspondendo a 17 das 26 aves (65,3%) e cinco dos 12 mamíferos (42%). As espécies de aves encontradas como sendo sororeagentes para *T. gondii* foram: *Patagioenas picazuro* (5/5), *Ara ararauna* (4/4), *Aratinga acuticaudata* (3/3) e *Amazona aestiva* (5/5), e as espécies positivas de mamíferos foram: *Tayassu tajacu* (2/2), *Cercopithecus thomasi* (1/1), *Nasua nasua* (1/1) e *Procyon cancrivorus* (1/2).

Tabela 1. Sorodiagnóstico de *Leptospira* spp. por Teste de Aglutinação Microscópico (MAT 570 *Leptospira*) em mamíferos e répteis e para *Toxoplasma gondii* por Teste de Aglutinação Modificado (MAT *Toxoplasma*) em aves e mamíferos do Parque Zoológico, Petrolina, Estado de Pernambuco, Brasil.

Classe	Ordem	Espécie	Nome popular	MAT <i>Toxoplasma</i>	MAT <i>Leptospira</i>	<i>Leptospira</i> Sorogrupo	
				N. positivo/N. testado (%) título	N. positivo/N. testado (%) título		
Aves (N=26)	Cariamiformes	<i>Cariama cristat</i>	Red-legged seriema	0/2 (0)	*	-	
	Columbiformes	<i>Patagioenas picazuro</i>	Picazuro pigeon	5/5 (100) 25	*	-	
	Falconiformes	<i>Caracara plancus</i>	Southern crested caracara	0/5 (0)	*	-	
	Psittaciformes	<i>Ara ararauna</i>	Blue-and-yellow macaw	4/4 (100) 100	*	-	
	Psittaciformes	<i>Ara chloropterus</i>	Red-and-green macaw	0/1 (0)	*	-	
	Psittaciformes	<i>Aratinga acuticaudata</i>	Blue-crowned parakeet	3/3 (100) 25	*	-	
	Psittaciformes	<i>Amazona aestiva</i>	Turquoise-fronted amazon	5/5 (100) 25	*	-	
	Psittaciformes	<i>Aratinga jandaya</i>	Jandaya parakeet	0/2 (0)	*	-	
	Mamíferos (N=12)	Artiodactyla	<i>Tayassu tajacu</i>	Collared peccary	2/2 (100) 50,100	0/2 (0)	-
		Carnivora	<i>Cerdocyon thous</i>	Crab-eating fox	1/1 (100) 25	0/1 (0)	-
Carnivora		<i>Nasua nasua</i>	South American coati	1/1 (100) 25	0/1 (0)	-	
Carnivora		<i>Procyon cancrivorus</i>	Raccoon	1/2 (50) 100	0/2 (0)	-	
Cingulata		<i>Euphractus sexcintus</i>	Six-banded armadillo	0/1 (0)	0/1 (0)	-	
Didelphimorphia		<i>Didelphis albiventris</i>	White-eared opossum	0/1 (0)	0/1 (0)	-	
Pilosa		<i>Tamandua tetradactyla</i>	Collared anteater	0/2 (0)	1/2 (50) 100	Australis	
Primates		<i>Alouatta caraya</i>	Black howler monkey	0/1 (0)	0/1 (0)	-	
Rodentia		<i>Rattus rattus</i>	Black rat	0/1 (0)	0/1 (0)	-	
Répteis (N=33)		Crocodylia	<i>Caiman latirostris</i>	Broad-snouted caiman	*	0/2 (0)	-
		Squamata	<i>Bothrops erythromelas</i>	Bothrops erythromelas	*	0/1 (0)	-
		Squamata	<i>Crotalus durissus</i>	Rattlesnake	*	0/1 (0)	-
	Squamata	<i>Epicrates cenchría</i>	Rainbow boa	*	0/1 (0)	-	
	Squamata	<i>Python reticulata</i>	Python	*	0/1 (0)	-	
	Testudinidae	<i>Geochelone carbonaria</i>	Red-footed tortoise	*	0/23 (0)	-	
	Testunidae	<i>Geochelone denticulata</i>	Yellow-footed tortoise	*	1/4 (25) 100	Hebdomadis	

\*não testado; N = número de animais testados.

A ocorrência total em mamíferos e aves observada no presente estudo (53,8%) foi inferior à relatada por Feitosa et al<sup>43</sup>, que foi de 40,5% (62/153) em animais em cativeiro em João Pessoa, Paraíba, sendo todos os coatis sul-americanos (*Nasua nasua*) examinados (n= 5) positivos para anticorpos de *T. gondii*. Pimentel<sup>15</sup>, também em Zoológico na região Nordeste do Brasil, Estado de Sergipe, examinou amostras de coatis (*N. nasua*), guaxinins (*P. cancrivorus*) e cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), obtendo 100% (2/2), 66,6% (4/6), e 0% (0/1) de soropositividade, respectivamente. Carneiro et al<sup>44</sup> analisaram amostras de coatis cativos de Goiás e encontraram uma ocorrência de 43% (7/16). Maia et al<sup>45</sup> examinaram uma amostra maior (n=99) de coatis do Parque Ecológico do Tietê (ocorrência de 43% animais positivos com títulos entre 50 e 3.200). Todos estes estudos indicam uma ocorrência relativamente elevada de anticorpos de *T. gondii* nesta espécie nos zoológicos brasileiros.

Um estudo realizado no Parque Zoológico-Botânico, João Pessoa, na Paraíba, encontrou anticorpos de *T. gondii* em *Tayassu tajacu* (1/1), apresentando um título de 400, e um rato preto (*Rattus Rattus*) (1/1) com um título de 400<sup>43</sup>. Em um estudo realizado no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, foi encontrada uma soroprevalência de 38,2% (13/34) para anticorpos de *T. gondii* em ratos negros selvagens (*Rattus rattus*)<sup>46</sup>, com títulos que variam entre 16-512. Carne et al<sup>47</sup>, na Guiana Francesa, também encontraram anticorpos no porco de colarinho (*T. tajacu*) (8/13), mostrando uma ocorrência de 62%.

Almeida et al<sup>48</sup> encontraram uma frequência de anticorpos anti-*T. gondii* de 50% (4/8) e 29,41% (5/17), respectivamente para *Cerdocyon thous* em liberdade e em cativeiro no Nordeste do Brasil.

A infecção por *T. gondii* em animais de cativeiro pode ocorrer como resultado de fatores como o estresse associado ao cativeiro, a presença de animais sinantrópicos, e possíveis erros na gestão sanitária, tais como alimentar carnívoros com carne que não tenha sido devidamente congelada<sup>49</sup>.

Nas aves examinadas, a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* foi de 65,3% (17/26) com quatro *Ara ararauna*, cinco *Patagioenas picazuro*, cinco *Amazona aestiva*, e três *Aratinga acuticaudata*, reativos. No Nordeste do Brasil, a espécie *P. picazuro* é de grande importância, uma vez que serve como fonte de alimento para o homem e poderia participar na transmissão da toxoplasmose nesta região.

*T. gondii* tem sido descrito em pombos e outras aves desde o início do século passado<sup>50</sup>, quando Carini<sup>51</sup>, no Brasil, observou o parasita em manchas do fígado e baço de uma pomba de rocha (*Columba livia*). As aves são importantes no ciclo de vida e epidemiologia deste coccídio, principalmente porque os seus tecidos representam importantes fontes de proteínas na alimentação de felídeos e humanos<sup>52</sup>.

A ocorrência de toxoplasmose em Psittaciformes é incomum, sendo relatada no diagnóstico *post-mortem* das espécies Australo-Asiáticas<sup>53,54</sup>, sem qualquer registro de diagnóstico sorológico na literatura. Neste estudo 57,69% das aves estudadas foram da Ordem Psittaciformes (15/26), e que 80% (12/15) foram positivas para *T. gondii*. Dentro desta ordem, foi realizado um estudo em Pernambuco<sup>55</sup> para a detecção de anticorpos de *T. gondii* na mesma espécie pesquisada no presente estudo, exceto para *Aratinga acuticaudata*. Tanto quanto é do conhecimento dos autores, este é o primeiro estudo que encontrou anticorpos para *T. gondii* em *A. acuticaudata*. As aves de rapina são considerados refratários ao *T. gondii*<sup>45</sup>, mas a ocorrência de toxoplasmose em *Strix varia*<sup>56</sup> é descrita em *Haliaeetus leucocephalus*<sup>57</sup>. Gonçalves et al<sup>58</sup> encontraram 12 (15,2%) das 79 aves selvagens, incluindo a espécie papagaio (*A. aestiva*) soropositiva para *T. gondii*. Gennari et al<sup>59</sup> encontraram anticorpos em 73 (36,1%) de 202 aves selvagens da Mata Atlântica, São Paulo, Brasil.

Poucos são os estudos soropidemiológicos da infecção por *T. gondii* em aves selvagens no Brasil. Na mesma região do presente estudo, foram realizados três estudos sorológicos. Gondim et al<sup>60</sup> encontraram apenas um dos 167 (0,59%) pardais de vida livre (*Passer domesticus*) examinados, apanhados perto das praças, positivos aos anticorpos de *T. gondii*. Na região Agreste, 60,3% (91/151) dos pardais das explorações avícolas foram soropositivos<sup>57</sup>, e no Arquipélago de Fernando de Noronha, 79,7% (157/197) dos pardais (*Bubulcus ibis*) foram reagentes aos anticorpos de *T. gondii*<sup>61</sup>.

As aves selvagens podem ser bioindicadores da presença de *T. gondii* numa dada região, uma vez que a identificação de aves soropositivas sugere que ingeriram oocistos esporulados no solo, água, ou alimentos contaminados<sup>59</sup>, ou no caso de aves de rapina, ingestão de taquizoítos de *T. gondii* ou bradi-zoítos em cistos de tecidos de rapina<sup>25</sup>. Assim, a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em aves soropositivas pode indicar a presença de hospedeiros definitivos, gatos e outros felídeos selvagens no ambiente<sup>25, 62</sup>.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

*T. gondii* e *Leptospira* spp. estão em circulação no Parque Zoológico de Petrolina. Os animais selvagens no Parque foram apreendidos da mesma região e é impossível afirmar se chegaram infectados ou apanharam a infecção no Jardim Zoológico, contudo a presença de anticorpos nesta população de animais selvagens num ambiente *ex situ* pode sugerir a circulação de ambos os agentes na Caatinga. Os resultados servem de aviso para o risco de uma possível transmissão destes agentes patogênicos entre animais em cativeiro e animais vadios, bem como para os seres humanos, e reforçam a importância da abordagem de “saúde única”.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a A.C. Araujo, I.W. Gomes, e Marcia B. Moreira pela valiosa ajuda durante o trabalho de campo; a J.P. Dubey da USDA por ter gentilmente fornecido o antígeno MAT; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento de Produtividade Científica a M.C. Horta, M.B. Heinemann e S.M. Gennari. Este estudo foi financiado em parte pela CAPES, Brasil (Código Financeiro 001) e pelo CNPq (420110/2018-6).

## REFERÊNCIAS

- Azevedo CS, Teixeira CP, Barçante L. Comportamento animal: Uma introdução aos métodos e à ecologia comportamental. Curitiba- PR: Appris. 2018; 221.
- Barongi R, Fischen FA, Parker M, Gusset M. Committing to Conservation: The World Zoo and Aquar. Cons. Strat. WAZA Executive office, 2015; 69.
- Silva CS, Girio RJJ, Guerra-Neto G, Brich M, Santana LAS, Amancio FH, et al. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais selvagens do zoológico municipal de Ribeirão Preto, estado de São Paulo, Brasil. Braz. J. Vet. Anim. Sci. 2010a; 4(3):237-242.
- Junge RE, King KBM, Gompper ME. A serologic assessment of exposure to viral pathogens and *Leptospira* IN: An urban racoon (*Procyon Procyon Lotor*) population inhabiting a large Zoobotanical Park. J of Zoo and Wildl. Med. 2007;38(1):18-26. <https://doi.org/10.1638/05-123.1>.
- Ullmann LSD, Neto RN, Teixeira RHF, Nunes AV, Silva RC, Pereira-Richini VB, et al.. Epidemiology of leptospirosis at Sorocaba Zoo, São Paulo state, Southeastern Brazil. Pesq. Vet. Bras. 2012;32(11):1174-1178. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012001100017>.
- Brod CS, Aleixo JAG, Jougard SDD, Fernandes CPH, Teixeira JLRS, Dellagostin OA. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito. Med. Trop. 2005; 38(4). <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822005000400003>.
- Shimabukuro FH, Domingues PF, Langoni H, da Silva AV, Pinheiro JP, Padovani CR. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospirosas pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. Braz J Vet Res Anim Sci. 2003; 40(1):243-53. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962003000400002>.
- Dubey JP; Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. Journal Medical Microbiology; 1988. v. 30, p. 3012.
- Saadatnia G, Golkar M. A review on human toxoplasmosis. Scandinavian J of Infect. Dis. 2012; 44(1):805-814. <https://doi.org/10.3109/00365548.2012.693197>.
- Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. Clin. Microb. Rev. 1998; 2(11):267-299. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.2671>.
- Dabritz HA, Conrad PA. Cats and *Toxoplasma*: implications for public health. Zoo. and Public Health. 2010;57:34-52. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01273.x>.
- Elmore SA, Jones JL, Conrad PA, Patton S, Lindsay DS, Dubey, JP. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. Trends in Parasit. 2010; 26(4):190-196. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.009>.
- Lindsay DS, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis. Parasit. 2011;9:1-3. <http://dx.doi.org/10.1017/S0031182011001478>.
- Brasil AWL, Parentoni RN, Farias RC, Nery TFL, Vasconcellos SA, Azevedo SS. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais mantidos em cativeiro na Paraíba. Sem.: Ciên. Agr. 2013; 34(6):2945-2950. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6p2945>.
- Pimentel SJS, Gennari SM, Dubey JP, Marvulo MFV, Vasconcellos SA, Moraes 402 ZM, et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotrópicos do Zoológico de Aracaju. Pesq. Vet. Bras. 2009; 29(12):1009-1014. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009001200010>.
- Sogorb F, Jamra LF, Guimarães EC. Toxoplasmose em animais de São Paulo. Brasil Rev. Inst. Med. Trop. 1977; 19:191-194.
- Silva FJ, Mathias LA, Magajevski FS, Werther K, Assis NA, Girio RJS. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/ SP. Ars Vet. 2010b; 26(1):017-025. <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2010v26n1p017-025>.
- Forsyth MB, Morris AJ, Sinclair DA, Pritchard CP. Investigation of Zoonotic Infections Among Auckland Zoo Staff: 1991-2010. Zoon. and Pub. Health. 2012;59(8), 561-567. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01496.x>.
- Ebani VV. Domestic reptiles as source of zoonotic bacteria: A mini review. Asian Pac. J. of Trop. Med. 2017;10(8): 723-728. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.020>.
- Dubey JP, Desmonds G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Equine Vet J. 1987;19(4):337-339. <https://doi.org/10.1111/j.2042-4193306.1987.tb01426.x>.
- Desmonds G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. J. Clin. Microbiol. 1980; 11(6): 562-568. <https://doi.org/10.1128/JCM.11.6.562-568.1980>.
- OIE. World Organization of Animal Health. Leptospirosis. In: \_\_\_\_\_. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: World Organisation for Animal Health, 2012. Disponível em: Acesso em: 20 abril 2020.
- Galton MM, Sulzer CR, Santa Rosa CA, Fields MJ. Application of a microtechnique to the agglutination test for *Leptospiral* antibodies. Applied Microbiology. 1965; 13 (1): 81-85.
- Alves CJ, Vasconcellos SA, Camargo CRA, Moraes ZM. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soropositivos para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. Arqs Inst. Biol. 1996;63, 11-18. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000400011>.
- Silva JCR, Marvulo MFV, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Adania CH, et al. Risk factors associated with seropositivity to *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Brazil. Prev. Vet. Med. 2007; 78 (3):286-295. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.10.013>.
- Leal IR, Silva JMC, Tabarelli M, Lacher Júnior TE. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of Northeastern Brazil. Conserv. Biol. 2005; 19 (3): 701-706. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00703.x>.

27. Costa-Neto EM. Conhecimentos e usos tradicionais de recursos faunísticos por comunidade Afro-brasileira. Resultados preliminares. *Interc.* 2000; 25: 423-421. <https://doi.org/0378-1844/00/09/423-09>.
28. Alves RRN, Barboza RRD, Souto EWMS. A global overview of canids used in traditional medicines. *Biod. and Cons.* 2010; 19(6):1513-1522. <https://doi.org/10.1007/s10531-010-9805-1>.
29. Silva JMC, Tabarelli M, Fonseca MT, Lins LV. Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília (DF): MMA/UFPE/Conservation International - Biodiversitas - Embrapa Semi-árido, 2004; p. 382.
30. Castelletti CHM, Silva M, Tabarelli AMM, Santos CHM. Quanto ainda resta da caatinga? Uma estimativa preliminar. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC *Ecologia em Conservação da Caatinga*. Recife, Ed. Universitária da UFPE. 2003; p. 719- 734.
31. Arraes-Santos AI, Araújo AC, Guimarães MF, Santos JR, Pena HFJ, Gennari S M, et al. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. *Vet. Par.: Reg. Stud. and Rep.* 2016; 5:14-18. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.08.007>.
32. Santos LF, Guimarães MF, Souza GO, Silva IWG, Santos JR, Azevedo SS, et al. Seroprevalence survey on *Leptospira* spp. infection in wild and domestic mammals in two distinct areas of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Trop. Anim. Health and Prod.* 2017; 49(10): 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1382-9>.
33. Oliveira PMA. *Animais Silvestres e Exóticos na Clínica Particular*. 1 ed., São Paulo: Roca, 2003.
34. Abdulla PK, Karstad L. Experimental infections with *Leptospira pomona* in snakes and turtles. *Zoo. Res.* 1962; 1: 295- 306.
35. Biscola NP, Fornazari F, Saad F, Richini-Perereira VB, Campaigner MV, Langoni H, et al. Serological investigation and PCR in detection of pathogenic leptospires in snakes. *Pesq. Vet. Bras.* 2011;31(9):806-811. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000900013>.
36. Oliveira JP, Kawanami AE, Silva ASL, Chung DG, Werther K. Detection of *Leptospira* spp. in wild *Phrynosoma geoffroanus* (Geoffrey's side-necked turtle) in urban environment. *Acta Trop.* 2016; 164:165-168. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.019>.
37. Fornazari F. Are reptiles reservoirs of leptospirosis? A brief discussion based on serological studies. *EcoHealth.* 2017; 14:203-204. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1243-z>.
38. Esteves FM, Guerra-Neto G, Girio RJS, Silva-Vergana ML, Carvalho ACFB. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do Zoológico Municipal de Uberaba, MG. *Arq. Inst. Biol.* 2005; 72(3):283-288.
39. Souza Junior MF, Lobato ZIP, Lobato FCF, Moreira EC, Oliveira RR, Leite GG, et al. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do estado do Tocantins. *Revta Soc. Bras. Med. Trop.* 2006; 39(3):292-294. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000300015>.
40. Lilenbaum W, Monteiro RV, Ristow P, Fraguas S, Cardoso VS, Fedullo LPL. Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zoo, Brazil. *Res. in Vet. Sci.* 2002; 73(3):319-321. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00099-1).
41. Luna-Alvarez MA, Moles-Cervades LP, Torres-Barranca JI, Guall-Sill F. Investigación sexológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. *Vet. México.* 1996;27(3):229-234.
42. Corrêa SHR, Vasconcellos SA, Teixeira AA, Dias RA, Guimarães MABV, Ferreira F, et al. Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. *Braz. Journ. Vet. Res. Anim. Sci.* 2004; 4(3): 189-193. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962004000300007>.
43. Feitosa TF, Brasil AWL, Parentoni RN, Vilela VLR, Nety TFL, Pena HFJ. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in mammals, birds and reptiles at the zoological botanical park in João Pessoa, Paraíba, Brazil. *Arq. do Inst. Biol.* 2017; 84 (1- 5):0022016. <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000022016>.
44. Carneiro BF, Miranda MM, Neto OJS, Linhares GFC, Araújo LBMA. Inquérito sorológico para *Toxoplasma gondii* em mamíferos Neotropicais mantidos no Centro de Triagem de Animais Silvestres. *Rev Patol Trop.* 2014; 43(1):69-78. <http://dx.doi.org/10.5216/rpt.v43i1.29373>.
45. Maia JF, Gennari SM, Milanelo L, Furuya HR, Souza VAF, Vitaliano SN. Serological survey of Toxoplasmosis in South American coatis (*Nasua nasua*) in Tietê Ecological Park, São Paulo, SP, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.* 2016; 53 (1): 1-6. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2016.111083>.
46. Costa DGC, Marvulo MFV, Silva JSA, Santana SC, Magalhães FJR, Lima Filho CDF, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. *J. Parasit.* 2012; 98(3):679-680. <https://doi.org/10.1645/GE-2910.1>.
47. Carme B, Aznar C, Motard A, Demar M, Thoisy De B. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in noncarnivorous free-ranging Neotropical mammals in French Guiana. *Vector Borne and Zoonotic diseases.* 2002; 2(1):11-17. doi: 10.1089/153036602760260733.
48. Almeida JC, Melo RPB, Kim PCP, Guerra NR, Alves LC, Costa DF, et al. Molecular and serological investigation of infectious diseases in captive and free range crab-eating fox (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1776) from northeastern Brazil. *PAS Acta Parasitologica.* 2018, 63(1), 184-189. <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0021>.
49. André MR, Adania CH, Teixeira RHF, Silva KF, Jusi MMG, Machado STZ, et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive neotropical and exotic wild canids and felids. *Journal of Parasitology.* 2010; 96(5):1007-1009. <https://doi.org/10.1645/GE-2502.1>.
50. Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet. Parasit.* 2002; 106(2): 121-153. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00034-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00034-1).
51. Carini AA. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. *Bullet. de la Soc. de Path. Exot.* 1911; 4:518-519.
52. Andrade LHM, Lugarini C, Oliveira RAS, Silva LTR, Marvulo MFV, Garcia JEG, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em aves silvestres de três Unidades de Conservação Federais da Paraíba e da Bahia. *Pesq. Vet. Bras.* 2016; 36(2):103-107. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000200007>.
53. Hartley WJ, Dubey JP. Fatal toxoplasmosis in some native Australian birds. *J Vet Diagn Invest.* 1991; 3:167-169.
54. Howerth EW, Rich G, Dubey JP, Yogasundram K. Fatal toxoplasmosis in a red lory (*Eos bornea*). *Avian Dis.* 1991;35:642-646. <https://doi.org/10.2307/1591235> 55. Silva MA, Pena HFJ, Soares HS, Aizawa J, Oliveira S, Alves B, et al. Isolation and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from free-ranging and captive birds and mammals in Pernambuco state, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2018; 27 (4): 481-487. doi:10.1590/s1984-296120180059.
56. Mikaelian I, Higgins R, Lequent M, Major M, Lefebure F, Martineau D. Leptospirosis in racoons in Quebec: 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. *Canad. Vet.* 1997;38(7):440-442.
57. Ziedler K, Hlinak A, Raetz G, Werner O, Ebnere D. Untersuchungen zum antikörperstatus von Wild- und Zoovogeln gegen ausgewählte Nutztier-relevante Erreger. *J. of Vet. Med.* 1995; 42:321-330. [https://doi.org/10.1016/0939-1489\(95\)00034-1](https://doi.org/10.1016/0939-1489(95)00034-1).

- org/10.1111/j.1439-0450.1995.tb00717.x.
58. Gonçalves GAM, Almeida SM, Camossi LG, Langoni H, Andreatti Filho RL. Avaliação sorológica de *Parainfluenzavirus* Tipo 1, *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp. e *Toxoplasma gondii* em aves silvestres. *Ciênc. Anim. Bras.* 2013;14(4):473-480. <https://doi.org/10.5216/cab.v14i4.16576>.
59. Gennari SM, Ogrzewalska M, Soares HS, Saraiva DG, Pinter A, Labruna MB, et al. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in birds from the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology.* 2014;200(1-2):193-197. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.003>.
60. Gondim LSQ, Abe-Sandes K, Uzêda RS, Silva MSA, Santos SL, Mota RA, et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sparrows (*Passer domesticus*) in the Northeast of Brazil. *Vet. Parasitol.* 2010;168(1-2):121-124. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.055>
61. Vilela SMO, Silva JSA, Pinheiro Júnior JW, Moraes EPBX, Saukas TN, Gondim LFP, et al. Sparrows (*Passer domesticus* L.) as intermediary hosts of *Toxoplasma gondii* in poultry farms from the “agreste” region of Pernambuco, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 2011;31(2):169-172. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000200013>.
62. Dubey JP. *Toxoplasmosis of animals and man.* 2.ed., CRC Press, Maryland, USA, 2010.