UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

GABRIELA HÉMYLIN FERREIRA MOURA

Estudo da infecção por *Toxoplasma gondii* e outros protozoários da família Sarcocystidae em aves e mamíferos silvestres na região Nordeste do Brasil

RECIFE
2022

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

GABRIELA HÉMYLIN FERREIRA MOURA

Estudo da infecção por *Toxoplasma gondii* e outros protozoários da família Sarcocystidae em aves e mamíferos silvestres na região Nordeste do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48p Moura, Gabriela Hémylin Ferreira
Estudo da infecção por Toxoplasma gondii e outros protozoários da família Sarcocystidae em aves e mamíferos silvestres na região Nordeste do Brasil / Gabriela Hémylin Ferreira Moura. - 2022.
92 f. : il.

Orientador: Rinaldo A. Mota.
Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2022.

1. Protozoários. 2.Isospora spp.. 3.Sarcocystis spp.. 4. Animais selvagens. 5. Caatinga. I. Mota, Rinaldo A., orient. II. Título

CDD 636.089

FOLHA DE APROVAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

_____

Gabriela Hémylin Ferreira Moura

Data de aprovação ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota (orientador)
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

_____

Prof.ª Dr.ª Renata Pimentel Bandeira de Melo
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

_____

Profª. Drª. Débora Rochelly Alves Ferreira
Centro Universitário UNIFIP

_____

Profª. Drª. Débora Costa Viegas de Lima
Departamento de Medicina Veterinária - UFPI

_____

Profª. Drª. Cecilia Irene Perez Calabuig
Departamento de Biociência Animal – UFERSA

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha mãe Teresa Cristina Ferreira Moura. Lembro como se fosse hoje no dia que ela soube que eu tinha sido aprovada no Doutorado a alegria radiante que ela ficou. Uma mãe que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos bons ou ruins, esteve comigo em Sobral no meu período de mestrado durante um mês em uma pousada para que eu conseguisse processar as amostras. Tive o prazer de estar presente sempre que ela precisava; ela tinha muito amor e cuidado comigo. Hoje escrevo com lágrimas nos olhos essa dedicatória porque sei que esse título não é só meu; é dela também, pois se orgulhava em dizer que estava muito feliz em ter uma filha seria doutora e nunca mediu esforços para ajudar nas etapas desta pesquisa.

Pena que a vida nos pegou de surpresa e Deus a quis levar para junto dele e uma das coisas que ela me pediu foi: “filha, não deixe o doutorado é o seu futuro você sempre amou os animais e o seu orientador é um anjo de pessoa, vá em frente, siga, não desista”; e a trancos e barrancos com o coração sangrando chego ao fim.

Sei que Deus em sua infinita misericórdia vai deixar a senhora saber que deu certo, que eu consegui.

E digo que Deus não poderia ter me dado uma mãe melhor, estaremos sempre juntas, para sempre. Te amo mãe.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que fez o céu e a terra e me deu forças para chegar até aqui. E Ele não me desamparou nem nos piores momentos que passei na minha vida e não me deixou só.

Aos meus pais Magno Moura Vidal, por ter sempre trabalhado para nos dar o pão de cada dia. A minha amada e eterna mãe Teresa Cristina Ferreira Moura (*in memoriam*) pela sua dedicação com os meus estudos, por nunca me negar nem deixar faltar nada que eu precisasse e pelo seu amor, carinho, atenção, cuidado.

A minha avó Maria do Socorro Ferreira por ser exemplo de luta, perseverança e dedicação aos estudos, onde foi professora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte por muitos anos. Sempre à frente do tempo e com uma mente brilhante, sempre nos apoiando para levantar a cabeça e seguir, presente na criação dando educação e amor.

Aos meus irmãos (Carolina, Rafaela e Thiago) pelos ensinamentos da vida e pelos momentos de gargalhadas em família em especial meu sobrinho Luiz Miguel.

Aos meus cunhados (Rana e Tó Zé) que estão sempre presentes nos momentos de felicidade.

Ao meu namorado Lucas Ramos por ser companheiro, amigo e topar todas as aventuras ao meu lado.

Aos meus primos de Recife (Michele, Fausto, Raissa, Catarina e suas famílias) que sempre me receberam super bem e foram bastante presentes nestes anos que passei no Pernambuco, meu muito obrigado.

Agradeço a todos os familiares que se fizeram presentes fisicamente ou não nesta jornada.

A minha amiga Maximiana, pela sua generosidade em processar minhas amostras, que foram importantíssimas para que eu entrasse no doutorado e pela sua atenção para comigo sempre.

A minha eterna professora e incentivadora da minha entrada na carreira acadêmica Ivana Cristina Nunes Gadelha Lellis, muito obrigada por ser essa pessoa generosa, atenciosa e de bons conselhos.

Aos meus professores da UFERSA (Iberê, Moacir e Cecília), muito obrigado por me ajudarem nas coletas para que eu conseguisse chegar no fim desta etapa.

Aos professores do Doutorado pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados neste período.

Agradeço imensamente ao ser humano que Deus me deu o prazer de conhecer, conviver e poder chamá-lo de meu orientador Rinaldo Aparecido Mota, não somente orientador de um projeto de doutorado e sim orientador da vida. Uma pessoa que sabe como falar, que entende que nós temos uma vida além do doutorado, uma pessoa de um coração gigante, companheiro, carinhoso e acima de tudo que consegue guiar seus “filhos” pelo melhor caminho e também sabe cobrar quando é necessário. Sei que não teria chegado até aqui sem seu apoio; amor e dedicação.

A todos os amigos que fiz na UFRPE, em especial a família LIDIC, que sempre me apoiaram, ajudaram em tudo que precisei, pelos ensinamentos e bons momentos compartilhados no laboratório.

Principalmente a uma pessoa pequenininha mas gigante na paciência, educação, generosidade e todas as melhores palavras que alguém possa dizer de uma pessoa é Renatinha, chamada por todos desta forma e amada por aqueles que tem o prazer de conversar e conviver com ela, meu muito obrigado e gratidão eterna.

A professora de Mossoró Cecília Calabuig e ao CETRAS pelas amostras disponibilizadas e ao meu amigo Neto de Zé Ferreira que colaborou disponibilizando seus animais para pesquisa.

A minha banca por aceitar e colaborar com a minha pesquisa, orientando para finalizarmos em grande estilo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida para o desenvolvimento da pesquisa

Agradeço a todos os animais, pessoas e os seres de luz que me ajudaram a chegar no fim deste lindo projeto da minha vida.

Estude
e tenha seu diploma
porque será o melhor
marido que você
poderá ter e
que nunca vai deixar você.

Por Maria Cristina Ferreira (Minha bisavó)

In memoriam

RESUMO

Objetivou-se avaliar a ocorrência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e o DNA de protozoários da família Sarcoscystidae em tecidos (encéfalo e coração) de aves e mamíferos silvestres do bioma Caatinga e do Centro de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres de Pernambuco (CETRAS-Tangara) na Mata Atlântica. No primeiro estudo realizou-se a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* e DNA de protozoários da família Sarcocystidae em 55 animais de vida livre do bioma Caatinga por meio da técnica de MAT e *nested* PCR seguida do sequenciamento*.* No segundo estudo realizou-se a pesquisa do DNA de protozoários da família Sarcocystidae em 96 aves (encéfalo) de cativeiro do CETRAS-Tangara e aves de vida livre do bioma Caatinga, pertencentes a 41 espécies. No terceiro estudo realizou-se a pesquisa de DNA da família Sarcocystidae em 79 mamíferos (encéfalo e/ou coração) de cativeiro do CETRAS – Tangara e vida livre do bioma Caatinga. Para identificar os protozoários da família Sarcocystidae nos três estudos empregou-se a *nested* PCR para o gene 18s rDNA seguido do sequenciamento genético. No primeiro estudo, detectou-se anticorpos em 7/29 (24,13%) tatus-peba, 6/16 (37,5%) catetos e ausência de anticorpos nas cutias (0/10) e o DNA de *Toxoplasma gondii* em 6/19 (31,57%) dos tatus-peba e nenhum cateto foi positivo. No segundo estudo, 25% (24/96) das amostras das aves foram positivas para os protozoários: *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii* em oito espécies de aves (*Amazona aestiva*, *Coereba flaveola*, *Egretta thula*, *Paroaria dominicana, Sporophila nigricollis, Cariama cristata, Columbina talpacoti*, *Crypturellus parvirostris*). No terceiro estudo, 25,31% (20/79) das amostras de nove espécies de mamíferos (*Conepatus semistriatus, Didelphis albiventris, Tamandua tetradactyla, Bradypus variegatus, Sapajus libidinosus, Thrichomys laurentius, Monodelphis domestica, Galea spix e Callithrix jaccus)* foram positivas para *T. gondii.* A ocorrência de anticorpos e DNA da família *Sarcocystidae* nas aves e mamíferos silvestres do bioma Caatinga e do CETRAS-Tangara demonstra a participação destas espécies no ciclo silvestre dos protozoários identificados e a necessidade de intensificar as pesquisas nessa área para a conservação de animais silvestres nos biomas Caatinga e Mata Atlântica.

Palavras-chave: Protozoários; *Isospora* spp; *Sarcocystis* spp*.;* Animais selvagens; Caatinga.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the occurrence of IgG anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and the DNA of protozoa of the Sarcoscystidae family in birds and wild mammals from the Caatinga biome and from the Pernambuco Wild Animal Screening Center (CETRAS-Tangara) in the Atlantic Forest. In the first study, the investigation of antibodies against *T. gondii* and DNA of protozoa of the family Sarcocystidae was carried out in 55 free-living animals from the Caatinga biome using the MAT technique and *nested* PCR followed by sequencing, respectively in 55 samples of mammals from three wild species. In the second study, the DNA research of protozoa of the Sarcocystidae family was carried out in 96 captive birds from CETRAS-Tangara and free-living birds from the Caatinga biome, totaling 96 animals from 41 species. In the third study, DNA research of the Sarcocystidae family was carried out in 79 mammals of five species from the Caatinga biome and the CETRAS-Tangara. To identify the protozoa of the Sarcocystidae family in the three studies, *nested* PCR was used for the 18s rDNA gene followed by genetic sequencing. In the first study, antibodies were detected in 7/29 (24.13%) armadillos, 6/16 (37.5%) collared peccaries and absence of antibodies in agoutis 0/10 and *Toxoplasma gondii* DNA in 6/ 19 (31.57%) of the giant armadillos and no collared peccary were positive. In the second study, 25% (24/96) of the bird samples were positive for the protozoa: *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* in eight bird species (*Amazona aestiva, Coereba flaveola, Egretta thula, Paroaria dominicana, Sporophila nigricollis, Cariama cristata, Columbina talpacoti, Crypturellus parvirostris*). In the third study, 25.31% (20/79) of samples from nine species of mammals (*Conepatus semistriatus, Didelphis albiventris, Tamandua tetradactyla, Bradypus variegatus, Sapajus libidinosus, Thrichomys laurentius, Monodelphis domestica, Galea spix and Callithrix jaccus*) were positive, for *T. gondii*. The occurrence of antibodies and DNA of the Sarcocystidae family in birds and wild mammals of the Caatinga and CETRAS-Tangara biomes demonstrates the participation of these species in the wild cycle of the identified protozoa and the need to intensify research in this area for the conservation of wild animals in the Caatinga and Atlantic Forest biomes.

Keywords: Protozoa; *Isospora* spp; *Sarcocystis* spp.; Wild animals; Caatinga.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 12

2. REVISÃO DE LITERATURA 15

2.1 Os biomas Caatinga e Mata Atlântica 15

2.2 Família Sarcocystidae 18

2.3 Gênero Toxoplasma 19

2.3.1 Histórico da Toxoplasmose 19

2.3.2 Ciclo biológico e vias de transmissão de *Toxoplasma gondii* 19

2.3.3 Epidemiologia da toxoplasmose em animais silvestres 26

2.3.4 Diagnóstico da toxoplasmose em animais silvestres 29

2.4 Gênero Sarcocystis 31

2.4.1 Aspectos gerais 31

2.5 Gênero Isospora/Cystisospora 33

2.5.1 Aspectos gerais 33

3. REFERÊNCIAS 37

4. OBJETIVOS 48

4.1 Objetivo Geral 48

4.2 Objetivos Específicos 48

5. CAPÍTULO 1 49

6. CAPÍTULO 2 64

7. CAPÍTULO 3 80

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS 91

LISTA DE ABREVIATURAS

ºC	Grau Celsius
CETRAS	Centro de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres de Pernambuco
CPRH	Agência Estadual de Meio Ambiente de Pernambuco
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio de Imunoadsorção Enzimática
IgG	Imunoglobulina classe G
IgM	Imunoglobulina classe M
MAT	Teste de Aglutinação Modificado
Nested PCR	Reação em Cadeia da Polimerase Nested
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
rDNA	DNA ribossomal

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* (CDC, 2015)..... **21**

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1. Referências sobre a detecção de anticorpos (IgG) anti-*Toxoplasma gondii* em tatus, cutias e catetos silvestres no Brasil..... **27**

Capítulo 1

Tabela 1. Frequência e título de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*), catetos (*Pecari tajacu*) e cutias (*Dasyprocta leporina*) analisados pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT). Identificação de protozoários Apicomplexa por nested PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em amostras dos tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*)..... **55**

Capítulo 2

Tabela 1. Ordem taxonômica, nome comum, nome científico, número de amostras e procedência das aves silvestres analisadas no estudo..... **68**

Tabela 2. Identificação de protozoários da família Sarcocystidae por *nested* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e sequenciamento genético em amostras de fragmentos de encéfalo de 14 aves silvestres da região nordeste do Brasil..... **71**

Capítulo 3.

Tabela 1. Relação dos 79 mamíferos silvestres utilizados neste estudo, segundo a ordem taxonômica, nome comum, espécie, quantidade amostral e procedência (Rio Grande do Norte – RN; Pernambuco – PE)..... **83**

Tabela 2. Relação dos 20 mamíferos silvestres positivos para *Toxoplasma gondii*, segundo a ordem, espécie, número de animais positivos na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) por localidade..... **85**

1. INTRODUÇÃO

Toxoplasmose é uma das zoonoses mais estudadas no mundo, listada como doença negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo considerada uma das doenças de menor ênfase pelos serviços de saúde pública (MARVULO; CARVALHO, 2014).

No Brasil, a infecção por *T. gondii* já foi identificada em metade da população de crianças e em mais de 80% das mulheres em idade reprodutiva (DUBEY et al., 2012). Na mulher, a infecção materna no primeiro e segundo trimestre pode desencadear infecções graves, chegando a ocasionar morte fetal, abortamento, hidrocefalia e distúrbios neurológicos em crianças congenitamente infectadas (ELBEZ-RUBINSTEIN et al., 2013); no terço final da gestação pode provocar infecção subclínica no recém-nascido, desencadeando, posteriormente, alterações oftálmicas como a coriorretinite (MONTOYA; LIENSEFELD, 2004).

Pequenos ruminantes também apresentam distúrbios reprodutivos por toxoplasmose. Em caprinos e ovinos, a infecção adquirida no início da gestação é mais severa, podendo causar sinais clínicos como morte fetal seguida de absorção embrionária ou abortamento. Quando a infecção ocorre no terço médio da gestação, os abortamentos são mais frequentes, enquanto no terço final da gestação, a imunidade do feto está mais desenvolvida e, nesses casos, é possível identificar o nascimento de crias fracas, com alterações neurológicas, ou assintomáticas e cronicamente infectadas (BUXTON et al., 2007).

Com relação aos animais silvestres, a infecção por *T. gondii* pode se apresentar de forma assintomática ou mesmo fatal. Primatas do novo mundo são espécies susceptíveis à toxoplasmose, sendo relatados casos agudos da doença e morte súbita (DIETZ et al., 1997; DUBEY; BEATTIE, 1988; EPIPHANIO et al, 2003; LINDSAY; DUBEY, 2014). Além disso, a presença de coinfecções com agentes imunossupressores, como a infecção pelo vírus da cinomose em carnívoros selvagens pode contribuir para a toxoplasmose clínica (DUBEY, 2016).

As aves podem desempenhar um importante papel epidemiológico na transmissão e manutenção de *T. gondii* e algumas espécies são consideradas indicadores da contaminação ambiental por oocistos deste protozoário. Diversos estudos sobre a infecção por *T. gondii* já foram desenvolvidos em aves domésticas (DUBEY, 2002a; DUBEY et al., 2003a; DUBEY, 2010), no entanto, ainda são

escassas as informações em espécimes silvestres. A gravidade da doença pode variar de infecções agudas subclínicas a fatais e apenas alguns estudos sobre a soroprevalência de *T. gondii* em aves silvestres como os Psittaciformes foram realizados (DUBEY, 2010). Mais recentemente, Castiglioni et al. (2021) demonstraram em um estudo realizado em São Paulo que a infecção por *T. gondii* em várias espécies silvestres indica a contaminação ambiental e a exposição dos animais a *T. gondii*.

Ainda não foram descritos estudos que determinam a importância da fauna silvestre na transmissão de *T. gondii* para os humanos, contudo os altos índices da infecção pelo protozoário em diversas espécies de aves e mamíferos silvestres indicam que estes animais podem atuar como fonte de infecção e via de transmissão deste protozoário para os humanos (MARVULO; CARVALHO, 2014).

Nesse sentido, destacam-se as espécies silvestres apreciadas por caçadores, a exemplo do tatu (*Euphractus sexcinctus*), que podem desempenhar um papel importante no ciclo de transmissão silvestre deste agente zoonótico. Além disso, acredita-se em uma associação entre o ciclo doméstico e selvagem de *T. gondii,* visto que os hospedeiros selvagens estão se aproximando do ambiente urbano. Animais como os tatus, gambás e roedores são encontrados em ambientes residenciais e estes podem se infectar ao ingerir oocistos de *T. gondii* no ambiente provenientes dos hospedeiros definitivos, os felídeos domésticos e silvestres. A infecção dos felídeos pode ocorrer pelo carnivorismo e a possibilidade de ingerirem animais infectados, inclusive espécies selvagens (FORNAZARI; LANGONI, 2014).

Países que realizam vigilância e monitoramento de doenças infecciosas e agentes zoonóticos em populações silvestres e ferais têm maior possibilidade de compreender a dinâmica das infecções e, assim, interferir na cadeia epidemiológica, realizando intervenções para proteger a biodiversidade, os animais domésticos e selvagens e as populações humanas (VIEIRA, 2009).

Para contribuir com os estudos sobre os coccídios da família Sarcocystidae nas espécies silvestres, esta pesquisa propôs investigar a ocorrência de anticorpos (IgG) anti-*T. gondii* e a presença do DNA de protozoários da família Sarcocystidae em aves e mamíferos silvestres de vida livre no bioma caatinga, Rio Grande do Norte, e mantidos em cativeiro no CETRAS-Tangara, Recife, Pernambuco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Os biomas Caatinga e Mata Atlântica

O Brasil possui uma rica biodiversidade de flora e fauna compartilhada pelos mais diferentes ecossistemas, abrigando aproximadamente 20% do número total de espécies viventes (GODOY, 2006). Dispõe, ainda, de uma ampla diversidade de espécies silvestres, destacando-se como uma das maiores diversidades biológicas globais (ANDRIOLO, 2007).

O bioma Caatinga (do tupi: *ka'a* [mata] + *tinga* [branca] = mata branca) é o único bioma exclusivamente brasileiro, o que significa que grande parte do seu patrimônio biológico não pode ser encontrado em nenhum outro local do planeta. Esta definição do bioma se refere à paisagem esbranquiçada representada pela vegetação durante o período seco: a maioria das plantas perde as folhas e os troncos tornam-se esbranquiçados e secos (SANTOS et al., 2017).

A Caatinga ocupa uma área de cerca de 850.000 km² (LACERDA, 2018), englobando de forma contínua parte dos estados da Paraíba, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Maranhão, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e parte do Norte de Minas Gerais (DE ARAUJO FILHO, 2011).

Este bioma ocupa aproximadamente 11% do território brasileiro, sendo bastante significativo para a região Nordeste, pois abriga uma expressiva diversidade de vertebrados silvestres, dentre os quais, já foram cadastradas aproximadamente 153 espécies de mamíferos (ALVES et al., 2016). Os períodos chuvosos possuem características peculiares, com cerca de 80% da pluviosidade distribuída de forma irregular e imprevisível e prolongados períodos de escassez de água (ARAUJO et al., 2007; ARAUJO et al., 2008). O tipo de vegetação predominante são as florestas sazonalmente secas, compostas principalmente de árvores espinhosas com 6 a 10 metros de altura em sua base, composta de pequenos arbustos de folhas caducas e ervas naturais muitas vezes leguminosas; arbustos e subarbustos estão presentes também em grande quantidade como os cactos e bromélias, dentre outras (PEREIRA FILHO; MONTINGELLI, 2011). Neste estudo descreveu-se a importância deste bioma para a manutenção de espécies e a manutenção da biodiversidade brasileira (ALVES et al., 2016).

As aves silvestres deste bioma podem servir como bioindicadores da presença de *T. gondii* (GONDIM et al., 2010), destacando-se aquelas que são consideradas cinegéticas que são comumente caçadas, e inclusive utilizadas para consumo humano, gerando risco de propagação de agentes zoonóticos (ALVES et al., 2012; MARVULO; CARVALHO, 2014). A captura de animais na Caatinga vem colocando várias espécies em ameaça de extinção, apesar de ser proibida pela Legislação Federal Brasileira (Lei n° 5197/67). A ingestão de carne de animais silvestres ainda constitui uma fonte alimentar comum, especialmente em áreas rurais do Brasil (BARBOZA et al., 2016). Tal prática pode contribuir para a infecção e disseminação de alguns agentes infecciosos como *T. gondii* (CAPELLÃO et al., 2015; DOMOZYCH et al., 2016).

No bioma Caatinga, os animais vivem em processo de harmonia ou em momentos conflitantes, onde os mamíferos de certa forma são alvo de conflitos que culminam na sua captura ou morte (MESQUITA; BARRETO 2015; SOUZA; ALVES, 2014). Em pesquisa realizada no bioma Caatinga foram descritas 41 espécies de mamíferos selvagens que eram caçadas, e destas, o maior número de espécies registradas foram: Carnivora (15), Rodentia (9), Cingulata (6) Primatas (3), Artiodactyla (2), Pilosa (2), Didelphimorphia (2), Chiroptera (1), Lagomorpha (1). Estas espécies eram utilizadas de várias formas, principalmente com finalidade alimentícia, medicinal, ornamental e decorativa, em práticas religiosas ou criados como animais domésticos (ALVES et al., 2016).

A criação de alguns animais silvestres de forma doméstica pode desencadear um aumento nas infecções pela aproximação destes com os humanos, favorecendo a disseminação de agentes infecciosos (TENTER, 1999). Assim, é possível identificar casos de zoonoses pelo aumento de reservatórios (CORRÊA; PASSOS, 2001). Os animais infectados por *T. gondii* e outros coccídios têm uma grande importância na epidemiologia e disseminação desses agentes parasitários, uma vez que podem ser predados e consumidos pelos felídeos (SOGORB et al., 1977; VITALIANO et al., 2014).

Os animais silvestres da fauna brasileira são encontrados na natureza, em vida silvestre ou no cativeiro, alocados em zoológicos, criadouros conservacionistas, científicos ou comerciais, institutos de pesquisa, centros de triagem e reabilitação ou em residências (na maioria das vezes de forma ilegal). Em situações de vida livre e

cativeiro, esses animais podem atuar como reservatórios e portadores de agentes infecciosos causadores de zoonoses (SILVA, 2004).

A Mata Atlântica é considerada um dos biomas mais ricos do planeta. É a segunda maior floresta úmida do Brasil e da Região Neotropical e apresenta uma excelente biodiversidade (SOS MATA ATLÂNTICA, 2016), uma elevada diversidade de animais endêmicos, porém está entre os cinco biomas mais ameaçados do mundo (MYERS et al., 2000). Em pesquisas recentes foi relatado apenas 12,5% da cobertura original da Mata Atlântica brasileira (MYERS et al., 2000; SOS MATA ATLÂNTICA, 2016).

As áreas de Mata Atlântica são de suma importância para a manutenção da rotina dos animais e do ambiente, favorecendo a purificação do ar, a proteção dos rios e nascentes, e ainda abriga mais de duas mil espécies de vertebrados, representando 5% das espécies do mundo (SOS MATA ATLÂNTICA, 2016).

O Bioma Mata Atlântica é constituído prioritariamente por mata ao longo da costa litorânea que vai do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul. Se estende pelos territórios dos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Santa Catarina, e parte do estado de Alagoas, Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, São Paulo e Sergipe. A Mata Atlântica apresenta uma variedade de formações e engloba um diversificado conjunto de ecossistemas florestais com estrutura e composições florísticas bastante diferenciadas, acompanhando as características climáticas da região onde ocorre (MMA/SBF, 2010).

O clima predominante é o tropical úmido com temperaturas médias altas durante todo o ano, precipitações pluviométricas regulares e bem distribuídas, compondo o relevo de planaltos e serras. Possui como formações florestais (Florestas Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta) e ecossistemas associados às restingas, manguezais e campos de altitude (ALMEIDA, 2010).

O crescimento da produção agrícola com o plantio de monoculturas, áreas de pastagens e pecuária têm induzido ao desmatamento, agravando o processo de extinção de muitas espécies de animais silvestres, atingindo diretamente a fauna local (FAHRIG, 2003; MAGALHAES, 2011). Pesquisas desenvolvidas neste bioma

ainda são escassas, principalmente em relação à importância dos animais silvestres na epidemiologia das doenças infecciosas (MAGALHAES, 2011).

Dentro da riquíssima fauna existente na Mata Atlântica, algumas espécies possuem ampla distribuição, podendo ser encontradas em outras regiões, como é o caso da onça-pintada, onça-parda, gatos-do-mato, anta, cateto, queixada, alguns papagaios, corujas, gaviões e muitos outros. O que mais impressiona, é a enorme quantidade de espécies endêmicas, ou seja, que não podem ser encontradas em nenhum outro lugar do planeta. Nesse contexto, incluem-se 73 espécies de mamíferos, com 21 espécies e subespécies de primatas. No total, a Mata Atlântica abriga quase mil espécies de aves, 370 espécies de anfíbios, 200 de répteis, 270 de mamíferos e cerca de 350 espécies de peixes. Segundo levantamento da Conservação Internacional, a maior parte das espécies da nova lista publicada pelo Ministério do Meio Ambiente habita a Mata Atlântica. Do total de 265 espécies de vertebrados ameaçados, 185 ocorrem nesse bioma (69,8%), sendo 100 (37,7%) deles endêmicos. Das 160 aves da relação, 118 (73,7%) estão presentes nesse bioma, sendo 49 endêmicas. Das 69 espécies de mamíferos ameaçados, 38 ocorrem nesse bioma (55%), sendo 25 endêmicas (VARJABEDIAN, 2010).

2.2 Família Sarcocystidae

Os organismos da família Sarcocystidae estão incluídos no Filo Apicomplexa e são protozoários intracelulares obrigatórios que apresentam um complexo apical onde se localiza um conjunto de organelas secretoras como micronemas, roptrias e grânulos densos. São capazes de infectar uma ampla gama de hospedeiros endotérmicos, dentre estas espécies domésticas, silvestres e os humanos, apresentando distribuição mundial (DUBEY; BEATTIE, 1988;).

Os componentes deste filo possuem um complexo ciclo biológico com peculiaridades em seus estágios infectantes, multiplicando-se de forma sexuada ou assexuada, e estão aptos a infectar diversos hospedeiros (BESTEIRO, 2014). Destacam-se como membros da família *Sarcocystidae* (Filo: Apicomplexa), os protozoários dos gêneros *Besnoitia, Eimeria, Cystoisospora, Frenkelia, Hyaloklossia*, *Hammondia, Isospora*, *Neospora, Sarcocystis, Toxoplasma,* entre outros. O gênero *Sarcocystis* e *Toxoplasma* são predominantemente identificados em animais

domésticos e silvestres no Brasil, seja por isolamento e/ou por meio de métodos moleculares em diferentes tecidos (RÊGO, 2018).

2.3 Gênero Toxoplasma

2.3.1 Histórico da toxoplasmose

O primeiro relato de *Toxoplasma gondii* ocorreu em 1908 por Charles Nicolle e Louis Manceaux que descreveram a presença de um parasito intracelular obrigatório em roedores (*Ctenodactylus gundi*), no Instituto Pasteur na Tunísia. Este parasito foi identificado em grande quantidade no baço, fígado e linfonodos mesentéricos dos roedores, além de ser encontrado em menor quantidade nos pulmões, rins, coração e medula óssea (NICOLLE; MANCEAUX, 2009).

No mesmo período, Splendore (1908) realizava pesquisas em São Paulo, Brasil, e identificou a presença de um parasito semelhante a *Leishmania* em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) (SPLENDORE, 2009). No primeiro momento, os pesquisadores acreditavam se tratar do protozoário *Leishmania,* denominando-o de *Leishmania gondii.* No entanto, Nicolle e Manceaux, no ano de 1909, detalharam as características morfológicas desse parasito e o renomearam de *Toxoplasma gondii* (do grego *toxon* = arco; *plasma* = forma) pela sua forma alongada, encurvada no seu período de multiplicação no interior de macrófagos (NICOLLE; MANCEAUX, 2009).

O primeiro relato da infecção por *T. gondii* em mamíferos e aves silvestres criados em cativeiro no Brasil foi descrito por Sorgorb et al. (1972) no Zoológico de São Paulo. Neste estudo foi detectada frequência de 61,96% (17/27) para anticorpos anti-*T. gondii* em aves e mamíferos selvagens e domésticos, destacando o papel epidemiológico dos mamíferos como sentinelas na disseminação deste coccídio. O primeiro levantamento sorológico em animais de vida livre foi em felídeos, observando-se uma frequência de 75,0% (29/32) de positivos, em primatas (63,3%; 31/49), marsupiais (63,6%; 21/33) e roedores (61,1%; 11/18) (FERRARONI; MARZOCHI, 1980).

2.3.2 Ciclo biológico e vias de transmissão de *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii está incluído no reino Protista, sub-reino Protozoa, filo Apicomplexa, classe Sporozoasida, ordem Eucoccidiorida, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae e gênero *Toxoplasma* (DUBEY, 2010). Posteriormente,

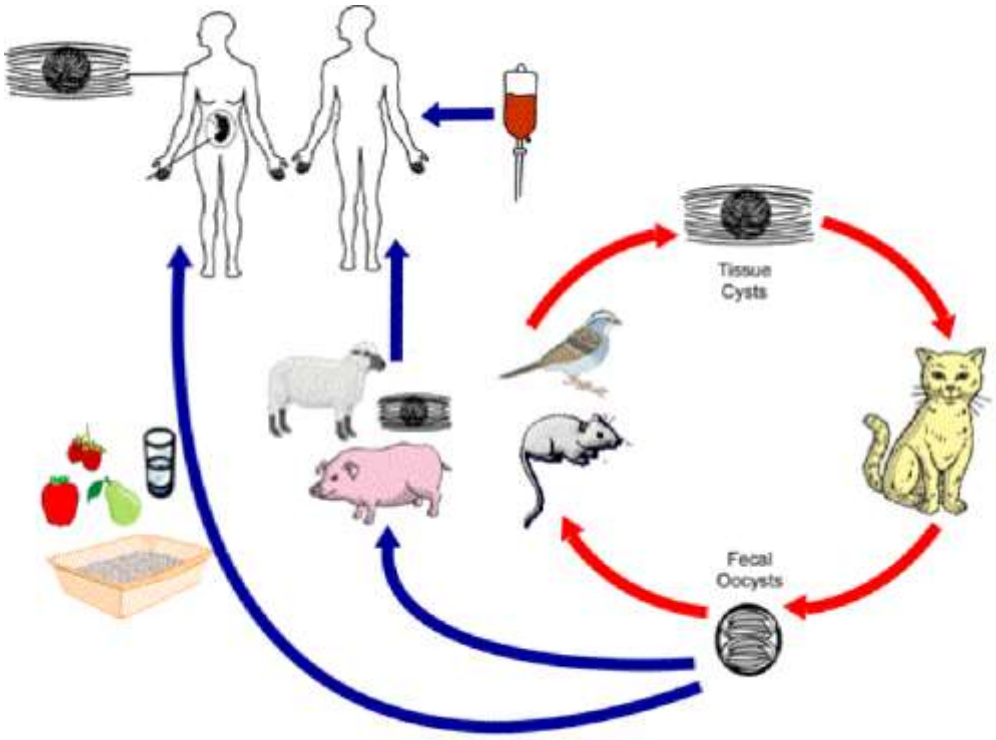
houve uma atualização da taxonomia dos organismos vivos, proposta por Adl et al. (2012) e reafirmada por Ruggiero et al. (2015) que sugeriram uma alteração da taxonomia de *T. gondii* baseada em similaridades filogenéticas e ultraestruturais. Esse parasito passou a ser incluído no reino Chromista, sub-reino Harosa (supergrupo SAR, compreendendo: Stramenopiles, Alveolata e Rhizaria), superfilo Alveolata, filo Miozoa, subfilo Myzozoa, infrafilo Apicomplexa, super classe Sporozoa, classe *Coccidiomorphea*, subclasse *Coccidia* e ordem *Eimeriida*, juntamente com outros parasitos associados como *Cyclospora* e *Neospora*. Esses autores argumentaram que um grande número de novas ferramentas moleculares produziu dados que exigem um modelo novo e mais robusto para se adequar à nova informação. Desta forma, a nova classificação constará de mudanças recentes com maior estabilidade no futuro (ADL et al., 2012).

É um protozoário formador de cistos teciduais que possui competência para infectar um grande número de animais endotérmicos como humanos, animais domésticos e silvestres (TENTER et al., 2000). Este protozoário também possui a capacidade de invadir vários tecidos e pode ser detectado em líquidos orgânicos como saliva, sangue, leite, esperma e líquido peritoneal (DUBEY, 2010; KAWAZOE; MINEO, 2011; PRADO et al., 2011). Potencialmente, todos os animais homeotérmicos (mamíferos e aves) podem atuar como hospedeiros intermediários de *T. gondii* (DUBEY, 2010; HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005).

Os únicos hospedeiros definitivos de *T. gondii* são os membros da família Felidae que apresentam um papel importante na transmissão e manutenção do protozoário pela capacidade de disseminação de oocistos no ambiente (TENTER et al., 2000). *T. gondii* é um dos parasitos mais estudados no mundo devido a sua grande importância na medicina veterinária e na saúde pública por causar a zoonose toxoplasmose (DUBEY, 2010), uma enfermidade potencialmente fatal para humanos imunocomprometidos e associada a problemas produtivos nas espécies caprina, ovina e suína (DUBEY, 2010; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

O ciclo biológico de *T. gondii* é do tipo heteroxeno facultativo com duas fases específicas, uma sexuada (acontece no epitélio intestinal) dos hospedeiros definitivos e a assexuada (multiplicação rápida de taquizoítos e a multiplicação lenta de bradizoítos) que ocorre nos hospedeiros definitivos e intermediários (inclusive humanos) (Figura 1) (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Figura 1. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* (CDC, 2015).



São descritas três formas infectantes do parasito: os taquizoítos, os bradizoítos e os esporozoítos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Os taquizoítos são células arqueadas, alongadas, medindo aproximadamente 6 µm de comprimento por 2 µm de largura. Possuem uma porção posterior arredondada e uma porção anterior com a presença de uma estrutura afilada denominada complexo apical (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; SPEER et al., 1999). Sua proliferação é rápida e assexuada, denominada de endodiogenia (DUBEY, 1998). Esta fase está diretamente relacionada à toxoplasmose, pois este penetra e causa lesões nos diferentes tecidos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os taquizoítos (*taqui* = “rápido” em grego) entram na célula por penetração ativa ou por fagocitose e se multiplicam durante a fase aguda da doença, se disseminando muito rápido no vacúolo parasitóforo no citoplasma (hospedeiros intermediários) e nas células epiteliais não intestinais (hospedeiros definitivos) (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Ao penetrar na célula invasora, multiplicam-se assexuadamente por endodiogenia, resultando na ruptura da célula invadida (DANTAS-LEITE, 2005). Apesar da sua eficiente disseminação, esta forma do parasito é a menos resistente,

sendo destruída rapidamente no ambiente, seja por desidratação ou pela alteração osmótica e ação das enzimas tripsina e pepsina. Porém, esta forma infectante tem habilidades para transpassar as barreiras hematoencefálica e placentária, ocorrendo, nesta última, a transmissão vertical (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Os bradizoítos (*bradi* = lento, em grego) são as formas evolutivas que se dividem de forma assíncrona, lenta e assexuada (DZIERSZINSKI et al., 2004; FERGUSON et al., 2009; SULLIVAN; JEFFERS, 2012). Medem 7 µm de comprimento por 1,5 µm de largura e diferem dos taquizoítos pois apresentam o núcleo localizado na porção posterior, róptrias sólidas, ausência de corpos lipídicos e numerosos micronemas e amilopectina (ricos em polissacarídeos, principalmente glicose) (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Essas formas são encontradas no interior das células hospedeiras dentro de cistos teciduais e persistem por um longo período num estado ativo (WEISS; KIM, 2000). Os cistos apresentam tamanhos variados, dependente do tempo, da célula hospedeira, da cepa de *T. gondii* e do método utilizado para a medição. Um cisto maduro possui em média de 50 a 100 µm de diâmetro e uma grande quantidade de bradizoítos em seu interior.

Os bradizoítos são a fase de encistamento do parasito nos tecidos, desenvolvendo-se por endopoligonia, onde alguns taquizoítos se transformam em bradizoítos, e essa mudança pode ocorrer de 10 a 14 dias após a infecção (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Após a transformação para bradizoítos ocorrem alterações morfológicas da membrana e da matriz do vacúolo parasitóforo, resultando na formação da parede cística, originando os cistos teciduais que ficam albergados por longo período dentro das células, tendo predileção por tecidos neurais, determinando a fase crônica da infecção (GUIMARÃES et al., 2007; WEISS; KIM, 2000).

De acordo com os estudos de Dubey (2008), os cistos teciduais fazem parte do ciclo de *T. gondii* e são formados em 3 dias após a infecção. O desenvolvimento desses cistos pode ocorrer em vários órgãos viscerais como pulmão, fígado e rins são mais frequentes no sistema neural e muscular como cérebro, olhos e musculatura esquelética e cardíaca (DUBEY, 2008).

A parede cística é composta por material do parasito e do hospedeiro, é elástica, rica em açúcar e outros polissacarídeos com espessura de 0,5µm e é um mecanismo de resistência dos bradizoítos frente à ação de defesa do sistema imunológico do hospedeiro (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). No momento da infecção, os cistos

teciduais podem ser lisados e ocorrer a conversão de bradizoítos em taquizoítos que penetram em outras células hospedeiras e ocorre nova conversão em bradizoítos, desenvolvendo, assim um novo cisto tecidual (GUIMARÃES et al., 2007; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

O resultado da reprodução sexuada que ocorre no trato intestinal dos hospedeiros definitivos é a formação de estruturas denominadas oocistos não esporulados (forma de resistência no meio extracelular). Os oocistos são esferoides ou sub-esferoides, têm parede celular resistente e uma massa interna compacta não uniforme (DABRITZ; CONRAD, 2010; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; SPEER et al., 1999).

Após a eliminação nas fezes, os oocistos não esporulados são incapazes de infectar um hospedeiro sendo necessário a esporulação que é um processo assexuado dependente de temperatura, umidade e oxigenação, que ocorre entre um e cinco dias após a excreção do oocisto no ambiente. Os oocistos passam então a apresentar no seu interior duas estruturas císticas (esporocistos), cada uma delas albergando quatro organismos denominados esporozoítos que são as formas evolutivas infectantes do parasito (DUBEY et al., 2011b; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os hospedeiros definitivos (felídeos domésticos e selvagens) são os únicos animais que podem eliminar oocistos após o consumo de alguma forma infectante do parasito (DUBEY, 2010). A concentração de oocistos liberados nas fezes dos felídeos varia de acordo com a forma infectante ingerida, em que a ingestão de cistos teciduais configura a principal razão de eliminação dos oocistos pelos felídeos (DUBEY, 2001). O ciclo heteroxeno de *T. gondii* pode ser segmentado em três distintas fases: no hospedeiro definitivo, no ambiente e no hospedeiro intermediário (BLACK; BOOTHROYD, 2000).

Nos felídeos, ocorre tanto a reprodução assexuada quanto a sexuada, como resultado da ingestão de formas infectantes de *T. gondii* por meio do consumo de tecidos de hospedeiros intermediários infectados (taquizoítos e bradizoítos), ou pela ingestão de água e alimentos contaminados por oocisto esporulados (DUBEY, 2009a)

Na replicação sexuada, as formas parasitárias infectam as células do epitélio intestinal do hospedeiro definitivo, sofrem alterações metabólicas e assumem distintos estágios na forma de esquizonte por meio de um processo denominado de

esquizogonia. Logo após, ocorre a diferenciação em microgameta e macrogameta por meio da gametogênese, estes se fundem dando origem ao zigoto que por sua vez origina o oocisto não esporulado (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; FERGUSON et al., 1974; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Após a infecção primária, os felinos eliminam milhões de oocistos não esporulados que perduram por cerca de duas a três semanas (DAVIS; DUBEY, 1995; DUBEY, 1995).

A estrutura do oocisto é constituída por uma multicamada robusta que alberga os esporozoítos de danos mecânicos e químicos, já os esporozoítos existentes nos oocistos podem permanecer viáveis por extensos períodos (até anos) em ambientes adequados. Essa é a forma de resistência ambiental do parasito e sua disseminação pode ocorrer de forma mecânica por moscas, baratas, besouros e outros artrópodes ou pode ser carreado pela água, vegetais e frutas para consumo (HILL; DUBEY, 2014). Ao contaminar frutas e verduras podem permanecer viáveis por pelo menos 8 semanas sob refrigeração (KNIEL et al., 2002). Os oocistos de *T. gondii* são altamente resistentes a desinfetantes, porém são destruídos em temperatura superior a 60º C (DUBEY; FRENKEL, 1970).

Os oocistos necessitam de 24 horas para se tornarem infectantes no ambiente e podem servir como fonte de infecção para os hospedeiros e ao esporularem podem sobreviver por anos em condições ambientais que o favoreça, sendo descrita sua viabilidade em solos úmidos por meses a anos, o solo é uma importante fonte de infecção para *T. gondii* isto ocorre pela resistência dos oocistos (DUBEY, 2009).

Existem poucos relatos na literatura sobre o nível de contaminação do solo e qual a dinâmica do parasito no ambiente (MALEKI, BAHMAN et al., 2021). Santos et al. (2010) avaliaram a presença de oocistos de *T. gondii* no solo de escolas públicas do ensino fundamental da região noroeste do estado de São Paulo, onde foi isolado em 22,58% (7/31), sendo a principal fonte de infecção para as crianças. Em plantações de hortas orgânicas no estado de Londrina foram feitas análises de solo onde foi identificado o DNA de *T. gondii* em 12,9% (8/62) das amostras, aumentando o risco de infecção dos hospedeiros suscetíveis (FERREIRA et al., 2018).

Em uma pesquisa recente desenvolvida no município de Recife-PE, os pesquisadores coletaram o solo de praças públicas onde existia livre acesso de pessoas e animais. Foi pesquisada a presença do DNA de parasitos do Filo Apicomplexa em 4 parques, 13 praças, 3 áreas de universidades públicas e 4

hospitais, totalizando 24 locais públicos da cidade. Foi identificado o DNA de protozoários em nove destes locais, dos quais oito ponto apresentaram 100% de similaridade com sequências de *T. gondii* (OLIVEIRA et al., 2021).

A toxoplasmose normalmente se apresenta de forma assintomática em indivíduos sadios, porém em indivíduos imunocomprometidos pode determinar sinais clínicos graves como encefalite, miocardite e hepatite (TENTER, 2000). Mulheres infectadas durante a gestação podem ter crianças com hidrocefalia, distúrbios neurológicos, calcificação cerebral e coriorretinite, características de um quadro grave de Tétrade de Sabin (FORNAZARI; LANGONI, 2014). Nos animais silvestres, a doença se assemelha à toxoplasmose em humanos e animais domésticos, porém alguns fatores favorecem o risco nestes animais e assim elevam a possibilidade de infecção, podendo ser uma ligação relevante para completar o ciclo zoonótico da doença (SILVA, 2006).

Todos os estágios infectantes de *T. gondii* podem causar a infecção nos hospedeiros intermediários e definitivos. As principais vias de transmissão são a horizontal por ingestão de oocistos encontrados no ambiente ou por consumo de carne e vísceras cruas ou mal passadas, pois os bradizoítos são resistentes a altas temperaturas e a enzimas proteolíticas. A via vertical decorre da transmissão transplacentária de taquizoítos (AMENDOEIRA-COUTINHO 1982; DUBEY 1994; DUBEY 1996; ALLAIN et al., 1998; DUNCANSON et al., 2001; MOZZATTO-PROCIANOY, 2003; DUBEY, 2004; MONTOYA-LIESENFELD, 2004; SAWADOGO, 2005; SUKTHANA, 2006; DUBEY et al., 2009a). A transmissão também pode ocorrer pela ingestão do leite materno, no caso da mãe infectada na forma aguda (DUBEY et al, 1998; OLIVEIRA et al, 2015). De forma menos frequente podem ocorrer casos de transmissão por transfusão sanguínea e transplantes de órgãos (DUBEY, 1994).

Para os humanos, o consumo de carnes cruas ou mal-cozidas é a principal forma de transmissão de *T. gondii*, além da ingestão de água e o consumo de alimentos contaminados com oocistos infectantes eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos (TENTER et al., 2000)

Para os animais silvestres, as principais vias de transmissão são o contato ou ingestão de oocistos presentes na água e solo, além do consumo de frutas e verduras contaminadas. As aves silvestres podem ser consideradas bioindicadores da presença de *T. gondii* e a presença de aves soropositivas sugere que estas tenham

ingerido oocistos esporulados no solo, água ou em alimentos contaminados (GONDIM et al., 2010); no caso de aves de rapina terem ingerido taquizoítos ou bradizoítos de *T. gondii* em cistos nos tecidos das presas (SILVA, 2007).

No caso dos tatus, outros carnívoros e aves silvestres, a infecção também pode acontecer por meio do carnivorismo de pequenos animais domésticos ou silvestres (SILVA, 2008). Na pesquisa realizada por Feitosa et al. (2017) no parque Zoobotânico da Paraíba foram identificados 68,9% (20/29) mamíferos positivos para anticorpos anti-*T. gondii,* resultado muito similar ao descrito por Pimentel et al. (2009) que detectaram 53,1% (17/32) animais soropositivos no Zoológico de Aracaju. Minervino et al. (2010) relataram frequência de 33% (61/184) de mamíferos positivos nos zoológicos da região norte e nordeste do Brasil. A presença de animais sinantrópicos e de gatos domésticos nos zoológicos aumenta a chance de infecção dos animais nos recintos (FEITOSA et al., 2008).

Quando os gatos ingerem cistos teciduais presentes nos tecidos das presas, a possibilidade de eliminação de oocistos nas fezes é maior quando comparada à ingestão de taquizoítos e oocistos (DUBEY, 2009a). Em geral, a eliminação dos oocistos ocorre em um curto período de tempo (1 a 2 semanas) após a primeira infecção, e posteriormente estes animais desenvolvem imunidade, dificilmente liberando oocistos novamente (DUBEY, 1996a). O gato é uma importante fonte de infecção no ciclo de vida de *T. gondii*, pois estes animais estão presentes em muitos locais e, quando infectados, eliminam elevada quantidade de oocistos, podendo chegar a milhões (DUBEY, 2001); os gatos positivos também agem como sinalizadores de contaminação ambiental, onde acredita-se que já ocorreu a eliminação (DUBEY, 2004).

2.3.3 Epidemiologia da toxoplasmose em animais silvestres

Um programa apropriado de monitoramento de patógenos em animais selvagens de vida livre e a identificação precoce da ocorrência de doenças emergentes é de grande importância já que esses agentes podem apresentar potencial zoonótico e comprometer a conservação de espécies (MÖRNER et al., 2002). Diferentes características epidemiológicas e ecológicas modificam a distribuição das infecções em uma população suscetível, sendo neste caso o maior desafio para os profissionais da saúde identificar quais as condições que ocorrem para a disseminação de uma

infecção e que podem desencadear uma epidemia (JORGE et al., 2010).

Os levantamentos de patógenos na fauna silvestre permitem identificar a situação sanitária desses animais, sejam eles de vida livre ou criados em cativeiro. Em condições modificadas de vida, os animais se tornam mais vulneráveis às doenças, por isso, é importante o controle dos patógenos para elaboração adequada do manejo dos animais de cativeiro (HIDASI, 2010; QUEIROZ, 2008).

Na tabela 1 estão descritos os trabalhos científicos realizados em tatus, catetos e cutias no Brasil.

Tabela 1. Referências sobre a detecção de anticorpos (IgG) anti-*Toxoplasma gondii* em tatus, cutias e catetos silvestres no Brasil.

Nome científico	Nome comum	Técnica	Frequência de positivos	Estado	Referência
Dasypus novemcinctus	Tatu-galinha	MAT	1/9 (11,11%)	São Paulo	Silva et al. (2006)
Euphractus sexcinctus	Tatu-peba	MAT	2/3 (66,6%)	São Paulo	Silva et al. (2006)
D. novemcinctus	Tatu-galinha	MAT	4/31 (12,9%)	São Paulo	Silva et al. (2008)
E. sexcinctus	Tatu-peba	MAT	1/1 (100%)	Minas Gerais	Vitaliano et al. (2014)
E. sexcinctus	Tatu-peba	MAT	2/33 (6,06%)	Rio Grande do Norte (RN)	Barbosa et al. (2020)
D. novemcinctus	Tatu-galinha	PCR	1/2 (50%)	Mato Grosso do Sul	Kluyber et al. (2021)
Dasyprocta aguti	Cutia	MAT	21/118 (17,79%)	Pará e RN	Minervino et al. (2010)
D. aguti	Cutia	MAT RIFI	109/21 (19%) 109/17 (18%)	Pará e RN	Soares et al. (2011)
Dasyprocta. azarae	Cutia	MAT	9/36 (25%)	Paraná	Yamakawa et al. (2020)
Pecari tajacu	Cateto	MAT	1/1 (100%)	Pará e RN	Minervino et al. (2010)
P. tajacu	Caititu/cateto	MAT	1/1 (100%)	Paraíba	Pena et al. (2016)

P. tajacu	Queixada	MAT	0/6 (0%)	Paraná	Ullmann et al. (2017)
P. tajacu	Caititu/cateto	MAT	22/22 (100%)	Paraná	Ullmann et al. (2017)

MAT: Teste de Aglutinação Modificado. RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta.

As infecções por *T. gondii* são relatadas desde a década de 70 em diversas espécies de aves domésticas e silvestres. Vários estudos relataram a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas de criação extensiva em vários países (DUBEY, 2002a; DUBEY et al., 2003a; DUBEY, 2010). Estudos também foram realizados em aves silvestres de vida livre das ordens Columbiformes, Passeriformes, Falconiformes, Accipitriformes e Gruiformes com prevalência variando de 5% a 79% (CABEZÓN et al., 2011; TIDY et al., 2017).

No estudo realizado por Acosta et al. (2018), soros foram coletados de 145 pinguins para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* no teste MAT ≥20 e 18 aves foram positivas. O bioensaio em camundongos para o isolamento de *T. gondii* foi realizado usando tecidos de 54 pinguins, mas nenhum isolado foi obtido. O DNA de amostras de tecidos de 330 indivíduos foi amplificado por PCR e sequenciado para detectar coccídios formadores de cistos teciduais usando primers direcionados para todos os sarcocistídeos (com base no gene 18S rDNA). As amostras positivas foram amplificadas por PCR e sequenciadas com primers específicos do gênero *Sarcocystis* e primers específicos para *Sarcocystis falcatula/Sarcocystis neurona*. Dezesseis amostras (3,0%) de músculo peitoral foram positivas para todos os sete marcadores moleculares e todas as amostras foram idênticas entre si. Organismos próximos a *Sarcocystis falcatula* foram confirmados em todos os casos. Este foi o primeiro relato de detecção molecular de infecção por organismos relacionados a *S. falcatula* e o primeiro relato de soropositividade para *T. gondii* em pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) de vida livre no Brasil (ACOSTA et al., 2018).

Castiglioni et al. (2021) analisaram 32 amostras (oito de aves e 24 de mamíferos) pelo MAT para a detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em animais silvestres de vida livre na região noroeste do estado de São Paulo. Foi observada positividade em 25% (2/8) das aves, incluindo as espécies *Rupornis magnirostris* (gavião-carijó) e *Caracara plancus* (carcará). Entre os mamíferos, 29,2% (7/24) foram soropositivos, incluindo uma raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*), dois lobos-guará (*Chrysocyon*

brachyurus), um bugio-preto (*Alouatta caraya*), dois cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) e um veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). Os resultados demonstraram que a infecção por *T. gondii* em várias espécies animais na região noroeste do estado de São Paulo indica a contaminação da área e a exposição dos animais a *T. gondii* (CASTIGLIONI et al., 2021).

Na região nordeste do Brasil foram descritos genótipos não clonais de *T. gondii* em animais silvestres. Vitaliano et al. (2014) observaram alguns genótipos de *T. gondii* (#231, #195, #238) na espécie *Dasypus novemcinctus* (tatu-verdadeiro), e o genótipo #241 em *Euphractus sexcinctus* (tatu-peba) e também identificaram os genótipos #232, #196, #233 em cateto (*Pecari tajacu*).

Almeida et al. (2017) descreveram o genótipo ToxoDB #13 em raposa *Cerdocyon thous* de vida livre em estado crítico de saúde que foi atendida em um Hospital Veterinário em Recife, Pernambuco. Após o óbito, fragmentos de tecido encefálico foram utilizados para o isolamento, e na prova de virulência, este isolado foi considerado avirulento.

Silva et al. (2018) relataram o genótipo #13 em uma garça estriada de vida livre (*Butorides striata*) e o genótipo Tipo BrIII em uma lontra em cativeiro (*Lontra longicaudis*). Lima et al. (2019) identificaram os genótipos ToxoDB #78, #146, #163, #260 e #291 em ratos pretos (*Rattus rattus*) na Ilha de Fernando de Noronha, Pernambuco.

2.3.4 Diagnóstico da toxoplasmose em animais silvestres

Para se obter um diagnóstico seguro da toxoplasmose animal é importante a associação dos sinais clínicos, informações epidemiológicas e a utilização de exames sorológicos, histopatológicos, moleculares e isolamento do protozoário (DUBEY, 1993). No diagnóstico da toxoplasmose são utilizadas técnicas indiretas (pesquisa de anticorpos) que são as mais utilizadas nos animais silvestres, e as técnicas diretas que detectam o patógeno que também são utilizadas para os animais silvestres, porém com menor frequência (DUBEY, 2010).

Os exames sorológicos são os mais utilizados e informam se o animal foi exposto a *T. gondii* em algum período de sua vida (DUBEY, 2010). Um método bastante empregado em animais silvestres é o MAT que não requer conjugado espécie-específico, é de baixo custo, não apresenta risco para o manipulador, sendo uma

técnica simples com boa sensibilidade e especificidade (DUBEY, 2002; DUBEY, 2010).

Existem outras técnicas de diagnóstico sorológico como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) identificada como “padrão ouro” e Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA), pelos quais é possível identificar anticorpos IgG e/ou IgM, porém essas técnicas não são utilizadas em animais silvestres pela necessidade de um conjugado espécie-específico (DUBEY, 2010; LIU et al., 2015).

No que concerne às técnicas diretas de diagnóstico da toxoplasmose, destacam-se as moleculares, como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) que são bastante utilizadas para identificação de agentes infecciosos em tecidos e secreções. Estas técnicas apresentam alta sensibilidade, especificidade e rapidez, tendo como característica importante a habilidade em detectar o parasito mesmo em concentrações muito baixas. Com o avanço da tecnologia, hoje já é possível analisar amostras por técnicas mais avançadas como a PCR em tempo real e *Nested* PCR (HURTADO et al., 2001).

Para a identificação de *T. gondii* também pode ser utilizado o exame histopatológico que pode ser feito com fragmentos de órgãos em formol a 10%, e posterior confecção de lâminas coradas com hematoxilina e eosina para pesquisa e visualização de cistos teciduais ou taquizoítos (SILVA, 2007).

A técnica de marcação por imunohistoquímica é feita com o material fixado em formalina a 10%, embebidos em parafina para diferenciar os estágios infectantes do parasito. Esta é uma técnica que não deve ser utilizada de forma isolada, sendo espécie-específica, porém pode ocorrer de não ser possível identificar qual o estágio do parasito (taquizoíto ou bradizoíto), contudo, acredita-se que pode ocorrer reação cruzada com *Sarcocystis, Neospora e Besnoitia*. A identificação do parasito é feita pela reação do material tratado com anticorpos policlonais anti-*T. gondii* (DUBEY, 2010).

Pesquisas realizadas empregando a técnica histopatológica e imunohistoquímica para identificar *T. gondii* em primatas neotropicais de vida livre ou de cativeiro foram desenvolvidas no Brasil (ANDRADE et al., 2007; CASAGRANDE et al., 2013; EPIPHANIO et al., 2000; EPIPHANIO et al., 2003; GONZALES-VIERA et al., 2013).

Para isolar *T. gondii* utiliza-se a técnica de bioensaio em camundongos na qual os tecidos suspeitos são inoculados em animais de laboratório ou também pode ser feita a pesquisa de *T. gondii* em cultura celular. O bioensaio tem baixo custo quando comparado às outras técnicas de isolamento (DUBEY, 2010). Para avaliar a virulência das cepas de *T. gondii,* o protocolo padrão é a inoculação em camundongos que é uma técnica que possui reconhecimento internacional (SARAF et al., 2017). Pesquisas que relataram a estrutura populacional e analisaram a correlação entre o genótipo do parasito e a toxoplasmose humana e animal, concluíram que a linhagem do tipo I é a mais virulenta e letal para camundongos, desencadeando doença clínica aguda. A do tipo II apresenta virulência intermediária em camundongos e a do tipo III é avirulenta. As linhagens II e III caracterizam o estado crônico da infecção pela característica de formação de cistos (OLIVEIRA et al., 2016; SÁNCHEZ-SÁNCHEZ et al., 2019).

Os isolados de *T. gondii* identificados na América do Norte e Europa são notavelmente clonais. A predominância dos isolados pertence a um dos três diferentes genótipos dos tipos I, II, III (HOWE; SIBLEY, 1995). Estas linhagens diferem-se por apresentar características distintas de virulência em modelos murinos (SIBLEY et al., 2009).

Também já foram descritas outras linhagens clonais clássicas, sendo esta a quarta linhagem tipo 12 relatada na América do Norte a partir de isolados de animais selvagens (KHAN et al., 2011). Essa nova cepa não está presente em nenhuma dessas linhagens clonais e foram descritas como cepas atípicas, exóticas ou recombinantes (RAJENDRAN; SU; DUBEY, 2012).

2.4 Gênero Sarcocystis

2.4.1 Aspectos gerais

O gênero *Sarcocystis* engloba protozoários apicomplexas que compreendem mais de 200 espécies com diferentes ciclos biológicos, patogenicidade e possibilidade de infectar os animais, sendo o ciclo de vida conhecido em apenas 26 espécies (DUBEY et al., 2015). A maioria dessas espécies está descrita em hospedeiros intermediários, mas, de acordo com Prakas; Butkauskas (2012) ainda não é conhecido nem metade dos hospedeiros definitivos do gênero. As espécies do gênero acometem o sistema digestivo e muscular de várias espécies animais e têm distribuição mundial.

O ciclo normalmente ocorre entre os predadores e as presas. Os carnívoros (ou onívoros) atuam como hospedeiros definitivos e excretam esporocistos nas fezes, que podem contaminar alimentos ou água e ser ingeridos pelos hospedeiros intermediários (herbívoros ou onívoros). Nesses, as espécies de *Sarcocystis* formam cistos na musculatura (sarcocistos), contendo os bradizoítos que representam o estágio assexuado que é infeccioso para os hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 2015; ROSENTHAL, 2021).

As aves também podem atuar como hospedeiros intermediários e definitivos de várias espécies do gênero (PRAKAS et al., 2012; DUBEY et al., 2016). Os resultados de investigações moleculares mais recentes demonstraram que várias espécies de *Sarcocystis* não são tão específicos para hospedeiros intermediários como se acreditava anteriormente, seja porque nunca desenvolveram tal especificidade ou porque recentemente se adaptaram a infectar parentes próximos de seus principais hospedeiros devido à interferência humana nos ambientes naturais nos últimos séculos (GJERDE et al., 2017a; GJERDE et al., 2017b).

Algumas das espécies do gênero *Sarcocystis* possuem potencial patogênico para o hospedeiro intermediário como *Sarcocystis falcatula*, *Sarcocystis calchasi* e *Sarcocystis neurona* que têm elevada predileção por animais silvestres, podendo causar infecção em Passeriformes, Psittaciformes e Columbiformes (KUTKIENÈ et al., 2012).

O ciclo biológico de *Sarcocystis* ocorre com a presença de dois hospedeiros: o definitivo que são os carnívoros ou onívoros e os intermediários que são os herbívoros ou onívoros. O hospedeiro intermediário se infecta ao ingerir os esporocistos ou oocisto esporulado em alimentos contaminados (KARAKAVUK et al., 2018). Após a ingestão do oocisto, os esporozoítos são liberados e seguem por via sanguínea até as células endoteliais dos vários órgãos como fígado e pulmões. Em seguida, ocorre o processo de esquizogonia e os merozoítos se espalham, seguindo para a musculatura estriada e cardíaca. Nestes locais, se desenvolvem em metrócitos que se propagam por endodiogenia, resultando nos bradizoítos que se localizam em um cisto septado na musculatura estriada (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Os hospedeiros definitivos se infectam por meio do consumo da musculatura dos hospedeiros intermediários infectados. Os bradizoítos contidos nos cistos são liberados e penetram na mucosa do intestino delgado onde ocorre a gametogonia,

desencadeando a formação dos oocistos. A esporogonia acontece na luz do tubo digestivo e o oocisto chega ao meio ambiente por meio das fezes em sua forma esporulada (PRAKAS; BUTKAUSKAS, 2012).

Os sinais clínicos da sarcocistose aviária nas aves muitas vezes não são observados. Contudo, em alguns casos pode ocorrer a morte súbita, porém algumas aves podem demonstrar fraqueza, dispneia, anormalidades neurológicas ou anorexia parcial ou total. Também podem ser observadas lesões como edema pulmonar, congestão, hemorragia, esplenomegalia e hepatomegalia, à necropsia (LLANO, 2019).

Estudos relatando a prevalência por meio de ferramenta molecular da infecção por várias espécies do gênero *Sarcocystis* em javalis, veados, gamos e alces foram realizados na Europa (GUARDONE et al., 2022). No Brasil, pesquisa realizada por Rêgo et al. (2021) identificou aves silvestres positivas para o gênero *Sarcocystis* com prevalência de 11,4% (5/44) por PCR. Em um artigo de revisão recente foi descrita a presença de espécies do gênero *Sarcocystis* (*S. falcatula, S. neurona, S. lindsayi* e *S. speeri*) em várias espécies de gambás (*Didelphis* spp.) como hospedeiros definitivos na Argentina e no Brasil (GONDIM et al., 2021).

Os animais selvagens podem abrigar espécies zoonóticas de *Sarcocystis* ainda não descobertas para as quais as pessoas podem servir de hospedeiros definitivos (após a ingestão de sarcocistos) ou mesmo como hospedeiros intermediários acidentais (após a ingestão de esporocistos) (ROSENTHAL, 2021, FAYER et al., 2015). Surtos recentes de infecção após o consumo de veado infectado por *Sarcocystis* foram descritos no Japão (OTA et al., 2019; INOMATA et al., 2020), sugerindo um potencial significado deste na saúde pública pelo consumo de cervídeos infectados (CABAJ et al., 2020).

2.5 Gênero Isospora/Cystisospora

2.5.1 Aspectos gerais

Até a descoberta do ciclo de vida de Toxoplasma, os coccídios eram considerados como tendo um ciclo fecal-oral direto. Frenkel e Dubey (1972) e Dubey e Frenkel (1972a) encontraram estágios extra-intestinais de *Isospora felis* e *I. rivolta* em gatos e camundongos. Um estágio encistado (cisto tecidual) de *I. felis* e *I. rivolta* foi encontrado em roedores (Frenkel e Dubey, 1972). Com base nessas observações,

Frenkel (1977) e Dubey (1977b) propuseram novos gêneros (*Cystoisospora* e *Levineia*) para as espécies de *Isospora* de gatos e cães, mas o gênero *Levineia* foi considerado sinônimo de *Cystoisospora*. Posteriormente, baseados na filogenia molecular, Barta et al. (2005) apoiaram a validação do gênero *Cystoisospora*.

As espécies do gênero *Cystoisospora* podem causar doenças em suínos, cães, gatos, camelos e macacos e as espécies do gênero *Isospora* podem causar doenças em aves. O gênero *Isospora* spp. possui dois ciclos biológicos: um sistêmico ou extra-intestinal que acomete órgãos como rins, fígado baço e linfonodos e o ciclo intestinal que é realizado nas células intestinais onde ocorrem distúrbios gastrointestinais como diarreia em decorrência das lesões nas células intestinais pelas formas imaturas do parasito (PEREIRA et al., 2013). Várias espécies de *Isospora* foram identificadas nas fezes de pássaros saltadores de asas verdes de vida livre e em cativeiro (COELHO et al., 2013).

Normalmente a transmissão das espécies do gênero *Isospora* ocorre pela via fecal-oral definida pelo ciclo de vida direto. São espécie-específicas e frequentemente observados em Passeriformes (COELHO, 2012). A infecção ocorre por meio da ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos esporulados do parasito. No tubo digestivo do hospedeiro, os esporozoítos são liberados dos oocistos e penetram nas células epiteliais do intestino, onde se arredondam, e passam a ser denominados de trofozoítos. A partir daí, se inicia a etapa proliferativa da reprodução (fase assexuada). Múltiplas meioses dão origem a vários núcleos, que por sua vez originam os merontes (ou esquizontes), que contêm os merozoítos. As células invadidas se rompem e liberam os merozoítos que se disseminam por dois caminhos: penetram em novas células intestinais, iniciando outra fase assexuada, dando origem a uma segunda geração de merozoítos, ou iniciam a etapa de diferenciação (fase sexuada), onde os merozoítos dão origem aos macro e microgametócitos (HERRERA et al., 2019).

Os microgametas que estão nos microgametócitos saem das células parasitadas e fecundam os macrogametas, formando o zigoto ou oocisto imaturo. Estes são eliminados nas fezes do hospedeiro e esporulam (esporogonia) no ambiente. A esporogonia ocorre sob condições adequadas de temperatura, oxigenação e umidade, quando o oocisto sofre divisão, dando origem a dois esporocistos, que contêm quatro esporozoítos cada um. As espécies do gênero *Isospora* que infectam

os pássaros têm ciclo biológico clássico, com os estádios endógenos no epitélio intestinal (PATTON, 1993).

A espécie *Isospora serini* que parasita canários, realiza cinco merogonias em fagócitos mononucleares em diferentes vísceras (especialmente fígado, baço e pulmões), além de duas gerações assexuadas finais e gametogonia no epitélio intestinal, tendo, assim, um período patente longo, geralmente em torno de 7 meses. Nas espécies de *Isospora,* a eliminação de oocistos que infectam passeriformes ocorre de forma cíclica e a maior eliminação é desencadeada no período da tarde (MONTEIRO, 2017).

Os oocistos de *Isospora* spp. contêm dois esporocistos cada um com quatro esporozoítos e as diferentes espécies podem ser diferenciadas pelo seu tamanho que são distintos e característicos (GREINER, 2008). Esta forma infectante é bastante resistente no ambiente e permanece viável durante meses em locais frescos e úmidos (PEREIRA et al., 2009). Estes são encontrados predominantemente em passeriformes, sendo que as aves que excretam oocistos de Isospora de espécies entéricas não demonstram sinais clínicos relevantes (GREINER, 2008).

Os Passeriformes muitas vezes se infectam por esses protozoários que colonizam os intestinos e se multiplicam nos enterócitos, causando sua destruição (GODOY; MATUSHIMA, 2010; VASCONCELOS, 2012). Os parasitos são carreados pelos leucócitos e chegam por meio da corrente sanguínea até outros órgãos como fígado, baço e rins. Os sinais clínicos estão associados às situações de estresse do hospedeiro, imunossupressão e idade, principalmente em aves jovens (GREINER, 2008). As aves infectadas por protozoários do gênero *Isospora* são acometidas por doenças entéricas, enquanto os mamíferos são suscetíveis a *Cystoisospora* (MONTEIRO, 2017).

Em canários infectados por *Isospora serini* foram observados sinais clínicos como depressão, perda de peso, penas pálidas, dificuldade respiratória, podendo ocorrer o óbito. É importante destacar que as espécies do gênero normalmente não infectam humanos, porém em indivíduos imunocomprometidos a infecção por *Isospora belli* pode ocorrer (CUNHA, 2018).

As aves adultas geralmente são assintomáticas, mas a isosporose sistêmica resulta em alta mortalidade para aves jovens (2 a 9 meses de idade) em cativeiro (ADKESSON et al., 2005; CUSHING et al., 2011; JAMRISKA et al., 2013). Os sinais

clínicos descritos nas aves são inespecíficos, incluindo hiporexia, perda progressiva de peso, redução da massa muscular peitoral, depressão, desidratação, diarreia, plumagem eriçada, distensão abdominal e perda de equilíbrio (SÁNCHEZ-CORDÓN et al., 2007; MASLIN; LATIMER, 2009).

No Brasil, de Oliveira et al. (2018) descreveram os achados patológicos e moleculares da isosporose sistêmica em aves saltadores de asas verdes (*Saltator similis*) mantidos em cativeiro no estado do Espírito Santo, Brasil. As aves desenvolveram sinais clínicos inespecíficos, incluindo penas eriçadas, hiporexia, perda de peso e apatia. Duas aves foram necropsiadas e macroscopicamente foram observados hepatomegalia, esplenomegalia, necrose de folículos linfoides, necrose hepática e enterite grave. Este relato indica que a isosporose sistêmica (atoxoplasmose) nesta espécie de ave é uma doença que afeta o baço, fígado e intestino delgado, tem alta mortalidade para as aves jovens, resultando em perdas significativas para criatórios comerciais.

3. REFERÊNCIAS

ACOSTA, I. C. L. *et al*. Occurrence of tissue cyst forming coccidia in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) rescued on the coast of Brazil. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p.1-12, 2018. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209007. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0209007. Acesso em: 15 abr. 2022.

ADKESSON, M. J.; ZDZIARSKI, J. M.; LITTLE, S. E. Atoxoplasmosis in tanagers. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 2, p. 265-272, 2005. DOI: https://doi.org/10.1638/03-091.1. Disponível em: https://bioone.org/journals/journal-of-zoo-and-wildlife-medicine/volume-36/issue-2/03-091.1/ATOXOPLASMOSIS-IN-TANAGERS/10.1638/03-091.1.short. Acesso em: 15 abr. 2022.

ALVES, R. R. N. *et al*. Game mammals of the Caatinga biome. **Ethnobiology and Conservation**, v. 5, n. 5, p. 1-51, 2016. DOI: https://doi.org/10.15451/ec2016-7-5.5-1-51. Disponível em: https://ethnobioconservation.com/index.php/ebc/article/view/90. Acesso em: 15 abr. 2022.

ALVES, R. R. N. Relationships between fauna and people and the role of ethnozoology in animal conservation. **Ethnobiology and Conservation,** v. 1, n. 2, p. 1-69, 2012. Disponível em: https://ethnobioconservation.com/index.php/ebc/article/view/20. Acesso em: 15 abr. 2022.

ARAUJO FILHO, J. C. de Relação solo e paisagem no Bioma Caatinga. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA FÍSICA APLICADA, 14., 2011, Dourados. **Anais** [...]. "Dinâmicas socioambientais das inter-relações às interdependência". Dourados: UFGD, 2011. Disponível em: http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/896995. Acesso em: 26 abr. 2022.

ARAÚJO, E. L. *et al*. Ecofisiologia de plantas da caatinga e implicações na dinâmica das populações e do ecossistema. *In*: MOURA, A. N.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. (Ed.). **Biodiversidade, potencial econômico e processos eco-fisiológicos em ecossistemas nordestinos**. Bauru: Canal6, 2008. 327-361 p. v. 1.

BARTA, J. R., *et al*. The genus Atoxoplasma (Garnham 1950) as a Junior objective synonym of the genus Isospora (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of Cystoisospora (Frenkel 1977) as the correct genus for Isospora species infecting mammals. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 3, p. 726-727, 2005. DOI: 10.1645/GE-3341.1. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16108579/. Acesso em: 15 abr. 2022.

BURRIDGE, M. J. *et al*. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. **Jornal da Associação Médica Veterinária Americana**, v. 175, n. 9, p. 964–967, 1979. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/521384/. Acesso em: 18 abr. 2022.

CABAJ, W. *et al*. Molecular identification of sarcocystis from tissue of fallow deer (Dama dama) farmed in the open pasture system based on ssu rRNA gene. **Acta**

Parasitologica, v. 65, n. 2, 351–360, 2020. DOI: 10.2478/s11686-019-00159-0. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31981017/. Acesso em: 18 abr. 2022.

CASTIGLIONI, L. *et al*. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in wild free-living birds and mammals from the northwest region of São Paulo state, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 58, 5 p., 2021. DOI: https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.176683. Disponível em: https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/176683. Acesso em: 18 abr. 2022.

COELHO, C. D. *et al*. Oocyst shedding by green-winged-saltator (*Saltator similis*) in the diagnostic of coccidiosis and Isospora similisi n. sp. (Apicomplexa: *Eimeriidae*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 64–70, 2013. DOI: https://doi.org/10.1590/S1984-29612013000100012. Disponível em:https://www.scielo.br/j/rbpv/a/mJr43GrtTPn9vKdKJ8YGdGh/abstract/?lang=en. Acesso em: 18 abr. 2022.

CUNHA, G. V. *et al*. Principais protozoários entéricos oportunistas associados à Aids: *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli*, Cyclospora cauetanensis e Microsporidia. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 16, n. 55, p. 99-107, 2018. DOI: https://doi.org/10.13037/ras.vol16n55.4723**.** Disponível em: https: /seer.uscs.edu.br/index.php/revista_ciencias_saude/article/view/4723**.** Acesso em: 18 abr. 2022

CRUZ, B. N. D. **Principais complicações parasitárias causadas por cryptosporidiumparvum, isospora belli e microsporidios em pacientes imunoComprometidos**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade de Ciência e Saúde – FACES, Centro Universitário de Brasília – UNICEUB, Brasília, 2018. Disponível em: https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/13066/1/21506138.pdf. Acesso em: 18 abr. 2022.

DABRITZ, H. A.; CONRAD, P. A. Cats and Toxoplasma: Implications for public health. **Zoonoses Public Health**, v. 57, n. 1, p. 34–52. 2010. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2009.01273.x. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19744306/. Acesso em: 18 abr. 2022.

DA SILVA, A. V. *et al*. Study of Toxoplasma infection in Brazilian wild mammals: Serological evidence in *Dasypus novemcinctus* Linnaeus, 1758 and Euphractus sexcinctus Wagler, 1830. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 1, p. 81-83, 2006. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.08.013. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/handle/11449/18062. Acesso em: 18 abr. 2022.

DA SILVA, R. C. *et al*. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. **Veterinary Parasitology**, 2008, v. 157, n. 3-4, p. 291-293. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.08.004. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18809258/. Acesso em: 28 abr. 2022.

DAVIS, S. W.; DUBEY, J. P. Mediation of immunity to *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in cats. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 6, p. 882–886, 1995. DOI: https://doi.org/10.2307/3284034. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3284034. Acesso em: 19 abr. 2022.

DE LIMA, D. C. V. *et al*. *Toxoplasma gondii* in invasive animals on the Island of Fernando de Noronha in Brazil: molecular characterization and mouse virulence studies of new genotypes. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. *67*, p.101347, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101347. Disponível em: https: //www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147957119301444?casa_token=DwLIQfKCfHsAAAAA:IxoouQT6b7pH39rR2O43vupcegqzfotTCc4urKCsvFquB9_11FgXbtu6qCYS5KhMu_LR5wvxNf8. Acesso em: 25 de abr. 2022.

DE OLIVEIRA, A. R. *et al*. Pathological and molecular characterization of systemic isosporosis (atoxoplasmosis) in captive green-winged saltator (*Saltator similis*). **Veterinary Parasitology**, v. 255, p. 98-101, 2018. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.04.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401718301468?via%3Dihub. Acesso em: 20 abr. 2022.

DE OLIVEIRA, P. R. F. *et al*. Investigation of soil contaminated with*Toxoplasma gondii* oocyst in urban public environment, in Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. *79*, 2021. DOI: 10.1016/j.cimid.2021.101715. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147957121001077?via%3Dihub. Acesso em: 26 abr. 2022.

Dietz, H.H., Henriksen, P., Bille-Hansen, V., Henriksen, S.A., 1997. Toxoplasmosis in a colony of New World monkeys. Vet. Parasitol. 68, 299–304.

DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **Journal of Experimental Medicine**, v. 132, n. 4, p. 636–662, 1970. DOI: 10.1084/jem.132.4.636. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4927658/. Acesso em: 19 abr. 2022.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **The Journal of Protozoology**, v. 19, n. 1, p. 155-177, 1972a. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1972.tb03431.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1550-7408.1972.tb03431.x. Acesso em: 19 abr. 2022.

DUBEY, J. P. Toxoplasma, Hammondia, Babesia, Sarcocystis, and other tissue cyst-forming coccidian of man and animals. *In*: KREIER, J. P. (Ed.). **Parasitic Protozoa**, New York, v. 3, p. 101-237, 1977b.

DUBEY, J.P., BEATTIE, C.P., 1988. Toxoplasmosis of Animals and Man. CRC Press, Boca Raton (220 pp).

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structure of Toxoplasma gondii tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 267–299, 1998. DOI: 10.1128/cmr.11.2.267. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC106833/. Acesso em: 20 abr. 2022.

DUBEY, J. P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 3, p. 410, 1995. DOI: https://doi.org/10.2307/3283823. Disponível em: https: www.jstor.org/stable/3283823?casa_token=Hsh6fVo9scAAAAA%3ARzRx336TmSJNEWA3fdbsNwY6Yh5mp1N7uh8LwEX67LjdXSrcLUirBKu2JechbThPfvYfHpuu7HItiJZyKqoInaiNnVunOiDdJOJs8Fa4Y27Cdzv-UQ&seq=1. Acesso em: 22 abr. 2022.

DUBEY, J. P. *et al*. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallusdomesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpectedfindings. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2002. DOI: 10.1016/s0020-7519(01)00364-2. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11796127/ Acesso em: 20 abr. 2022.

DUBEY, J. P. History of the Discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 8, p. 877–882, 2009a. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.01.005. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751909000605?via%3Dihub. Acesso em: 20 abr. 2022.

DUBEY, J. P. *et al*. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpectedfindings. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 4, p. 709–712, 2010a. DOI: 10.1645/GE-2425.1. Disponível em: https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-96/issue-4/GE-2425.1/New-Toxoplasma-gondii-Genotypes-Isolated-from-Free-Range-Chickens-from/10.1645/GE-2425.1.short?tab=ArticleLink. Acesso em: 20 abr. 2022.

DUBEY, J. P. *et al*. A new atypical highly mouse virulent *Toxoplasma gondii* genotype isolated from a wild black bear in Alaska. **The Journal of Parasitology**, v. 96, n. 4, p. 713–716, 2010b. DOI: 10.1645/GE-2429.1. Disponível em: https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-96/issue-4/GE-2429.1/A-New-Atypical-Highly-Mouse-Virulent-Toxoplasma-gondii-Genotype-Isolated/10.1645/GE-2429.1.short. Acesso em: 20 abr. 2022.

DUBEY, J. P. *et al*. **Sarcocystosis of Animals and Humans**. 2nd. ed. Boca Raton, FL,: CRC Press, 2015. 501 p.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2nd. ed. Boca Raton, FL,: CRC Press, 2016. 340 p.

DUBEY, J. P., LAGO, et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. ***Parasitology***, 2012. *139*(11), 1375-1424.

DZIERSZINSKI, F. *et al*. Dynamics of *Toxoplasma gondii* differentiation. **EukaryoticCell**, v. 3, n. 4, p. 992–1003, 2004. DOI: 10.1128/EC.3.4.992-1003.2004. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/EC.3.4.992-1003.2004. Acesso em: 26 abr. 2022.

EPIPHANIO, S., SINHORINI, I.L., CATAO-DIAS, J.L., 2003. Pathology of toxoplasmosis in captive new world primates. J. Comp. Pathol. 129, 196–204.

FAYER, R.; ESPOSITO, D. H.; DUBEY, J. P. Human infections with Sarcocystis species. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 28, n. 2,. p. 295–311, 2015. DOI: 10.1128/CMR.00113-14. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00113-14. Acesso em: 26 abr. 2022.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Relatório Anual 2016**: SOS Mata Atlântica 30 Anos. São Paulo: 2016. 103 p. Disponível em: https://cms.sosma.org.br/wp-content/uploads/2013/05/AF_RA_SOSMA_2016_web.pdf. Acesso em: 26 abr. 2022.

FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual Review Ecology Evolution Systematics**, v. 34, n. 1, p. 487–515, 2003. DOI:10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/216849867_Fahrig_L_Effects_of_Habitat_Fragmentation_on_Biodiversity_Annu_Rev_Ecol_Evol_Syst_34_487-515. Acesso em: 26 abr. 2022.

FRANKE, C. R. (Org.). *et al*. **Mata Atlântica e Biodiversidade**. 1. ed. Salvador: EdUFBA, 2005. 461 p. Disponível em: https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/3014/1/mata_atlantica_e_biodiversidade%5B1%5D.pdf. Acesso em: 26 abr. 2022.

FELICIO, P. S. *et al*. Eco-Epidemiology of Toxoplasmosis in Ruminant and the Experimental Model Evidence from Mice Bioassay for Transmission of Infection Starting of Contaminated Soil Samples Confirmed by Polymerase Chain Reaction (PCR) and Indirect Immunofluorescence Reaction (RIFI) Techniques Diagnostic, **Global Veterinaria**, v. 6, n. 1, p. 78–90, 2011. Disponível em: https://www.idosi.org/gv/gv6(1)11/11.pdf. Acesso em: 26 abr. 2022.

FERGUSON, D. J. P. *Toxoplasma gondii:* 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 133–148, 2009. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000200003. Disponível em: https://www.scielo.br/j/mioc/a/c3zTqcQyh8DMhN3NpCddHGs/?lang=en. Acesso em: 26 abr. 2022.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P. Serologic and its prevention in cats and man. **Journal of Infectious Diseases**, v. 126, n. 6, p. 664–673, 1972. DOI: 10.1093/infdis/126.6.664. Disponível em: https://academic.oup.com/jid/article-abstract/126/6/664/2189265?redirectedFrom=fulltext&login=false. Acesso em: 26 abr. 2022.

FRENKEL, J. K. Besnoitia Wallacei of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. **The Journal of Parasitology**, v. 63, n. 4, p. 611-628, 1977. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3279560. Acesso em: 27 abr. 2022.

FRENKEL, J. K.; RUIZ, A.; CHINCHILLA, M. Soil survival of Toxoplasma oocysts in Kansas and Costa Rica. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 24, n. 3, p. 439–443, 1975. DOI: 10.4269/ajtmh.1975.24.439. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1098494/. Acesso em: 27 abr. 2022.

FEITOSA, T. F. *et al*. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in mammals, birds and reptiles at the zoological-botanical park in João Pessoa, Paraíba, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, 2018. DOI: https://doi.org/10.1590/1808-1657000022016. Disponível em: https://www.scielo.br/j/aib/a/mtKbmSzxJJw4qZNC39x4tms/?lang=en. Acesso em: 27 abr. 2022.

FERREIRA, F. P. *et al*. The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 3, p. 327-337, 2018. DOI: https://doi.org/10.1590/S1984-296120180050. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbpv/a/yRdBsBh8PcpzfyDyrWXPB5g/?lang=en. Acesso em: 27 abr. 2022.

GJERDE, B. *et al*. Morphological and molecular characterization of four *Sarcocystis spp*., including *Sarcocystis linearis* n. sp., from roe deer (*Capreolus capreolus*) in Italy. **Parasitology Research**, v. 116, n. 4, 1317–1338, 2017a. DOI: 10.1007/s00436-017-5410-5. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28255918/. Acesso em: 27 abr. 2022.

GJERDE, B. *et al*. Morphological and molecular characteristics of six *Sarcocystis* spp. from red deer (*Cervus elaphus*) in Spain, including *Sarcocystis* cervicanis and three new species. **Parasitology Research**, v. 116, n. 10, p. 2795–2811, 2017b. DOI: 10.1007/s00436-017-5590-z. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28856431/. Acesso em: 27 abr. 2022.

GONDIM, LEANE S.Q, et al. Toxoplasma gondii and Neospora caninum in sparrows (Passer domesticus) in the Northeast of Brazil. ***Veterinary Parasitology***, 2010, 168.1-2: 121-124.

GONDIM, L. F. P. *et al*. *Sarcocystis neurona* e *Sarcocystis* spp. relacionados, excretados por gambás (*Didelphis* spp.) na América do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, n. 3, 2021. DOI: https://doi.org/10.1590/S1984-29612021059. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbpv/a/SsWGTTGjgvbwdGDZmqhybxd/?lang=en. Acesso em 27 abr. 2022.

GREINER, E. C. Isospora, atoxoplasma, and *sarcocystis*. *In*: ATKINSON, C. T.; THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. **Parasitic diseases of Wild Birds**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008. p. 108-119. Disponível em: https://www.academia.edu/42120677/Parasitic_Diseases_of_Wild_Birds_Parasitic_Diseases_of_Wild_Birds_Edited. Acesso em: 27 abr. 2022.

GUARDONE, L. *et al*. A Review on Alaria alata, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* spp. in Mammalian Game Meat Consumed in Europe: Epidemiology, Risk Management and Future Directions. **Animals**, v. 12, n. 3, p. 263. 2022. DOI: 10.3390/ani12030263. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8833328/. Acesso em: 27 abr, 2022.

HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, n. 01, p. 41–61, 2005. DOI: 10.1079/ahr2005100. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16164008/. Acesso em: 27 abr. 2022.

HILL, D. E. *et al*. Surveillance of feral swine for Trichinella spp. and Toxoplasma gondii in the USA and host-related factors associated with infection. **Veterinary parasitology**, v. 205, n. 3-4, p. 653-665, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.07.026. Disponível em: HTTPS: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714004130?casa_token=lX1aKyFPSzsAAAAA:HdYntDO2hqnJEznT8KdFcaB0PtTD-BM8KKqSZbAs5BBHekmfJa4jviaG6AWX7v7rofruh9-2qvc. Acesso em: 27 abr, 2022.

INOMATA, A. *et al*. A Food Poisoning Case by the Deer Meat with Three Kinds of *Sarcocystis* spp. in Niigata Prefecture, Japan. Jpn. **Journal Food Microbiology**, v. 37, p. 178–182. 2020.

JAMRIŠKA, J.; BARBÓN, A. R.; MODRÝ, D. A new species of Isospora Schneider, 1881 (Apicomplexa: *Eimeriidae*) from the blue-crowned laughingthrush Dryonastes courtoisi (Passeriformes: *Timaliidae*). **Acta Protozoologica**, v. 52, n. 2, p. 99-103, 2013. DOI: https://doi.org/10.4467/16890027AP.13.0010.1089. Disponível em: https://www.ejournals.eu/Acta-Protozoologica/Tom-52(2013)/Issue-2/art/716/. Acesso em 27 abr. 2022.

KNIEL, K. E. *et al*. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocyst on raspberries and blueberries. **Journal of Parasitology**, v. 88, n.4, p. 790-793, 2002. DOI: https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0790:EOAASO]2.0.CO;2. Disponível em: https: meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/88/4/790/7013/EXAMINATION-OF-ATTACHMENT-AND-SURVIVAL-OF. Acesso em: 28 abr. 2022.

KLUYBER, D. *et al*. Zoonotic parasites infecting free-living armadillos from Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 68, n. 3, p. 1639-1651, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13839. Disponível em: http://hdl.handle.net/11449/208055. Acesso em: 27 abr. 2022.

KUTKIENÈ, L. *et al*. Description of *Sarcocystis turdusi* sp. nov. from the common blackbird (*Turdus merula*). **Parasitology**, v.139, n. 11, p. 1438-1443, 2012. DOI: 10.1017/S0031182012000819. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22814103/. Acesso em: 28 abr. 2022.

LACERDA, P. B. D. **Educação ambiental e ensino contextualizado de matemática no semiárido**: um estudo de caso no Município de São João do Cariri-PB. 2018. 152 f. Dissertação (Mestrado em Educação) – Centro de Educação, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15219. Acesso em: 28 abr. 2022.

LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P., 2014. Toxoplasmosis in wild and domestic animals. In: Toxoplasma gondii. The Model Apicomplexan – Perspectives and Methods. Academic.

LLANO, H. A. *et al.* Molecular screening for Sarcocystidae in muscles of wild birds from Brazil suggests a plethora of intermediate hosts for Sarcocystis falcatula. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife.** v. 17, p.230-238, 2022. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.03.002. Disponível em: https: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224422000219. Acesso em: 28 abr. 2022.

LEVINE, N. D. **The Protozoan Phylum Apicomplexa**. CRC Press: Boca Raton, FL, 1988. v. 1, 203 p. v. 2, 154 p.

LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L; DUBEY, J. P. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n. 4, p. 309–313, 2002. DOI: 10.1016/s0304-4017(01)00554-4. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401701005544?via%3Dihub. Acesso em: 28 abr. 2022.

LINDSAY, D. S. *et al*. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in sea water. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 50, n. s1, p. 687–688, 2003. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00688.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00688.x. Acesso em: 28 abr. 2022.

LUO, H. et al. Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in zoo and domestic animals in Jiangxi Province, China. ***Parasite***, v. 27, n. 7, p. 1-3, 2017.

MAGALHÃES, D. F. de. Zoonoses e saúde pública: riscos da proximidade humana com a fauna silvestre. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 14, n. 1-3, p. 1–9, 2011. Disponível em: https://rcvt.org.br/?page_id=3637. Acesso em: 28 abr. 2022.

MALEKI, B. *et al*. Toxoplasma oocysts in the soil of public places world wide: a systematic review and meta-analysis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 115, n. 5, p. 471-481, 2021. DOI: 10.1093/trstmh/traa133. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33205208/. Acesso em: 28 abr. 2022.

MASLIN, W. R.; LATIMER, K. S. Atoxoplasmosis in canary fledglings: severe lymphocytic enteritis with preferential parasitism of B lymphocytes. **Avian Diseases**, v. 53, n. 3, p. 473–476, 2009. DOI: 10.1637/8557-121008-Case.1. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19848092/. Acesso em: 28 abr. 2022.

MYERS, N. *et al*. Biodiversity hot spots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000. DOI: 10.1038/35002501. Disponível em: https://sdmmp.com/upload/SDMMP_Repository/0/038n1thz2kcdwfpqs7jy6mrvg4xb59.pdf. Acesso em: 28 abr. 2022.

MITSUKA-BREGANÓ R.; LOPES-MÓRI, F. M.; NAVARRO, I. T. (Orgs.). **Toxoplasmose Adquirida na Gestação e Congênita**: Vigilância em Saúde, Diagnóstico, Tratamento e Condutas. Londrina: EDUEL, 2010. Disponível em: https://static.scielo.org/scielobooks/cdtqr/pdf/mitsuka-9788572166768.pdf. Acesso em: 13 nov. 2021.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370 p.

OLIVEIRA, A. C. M *et al*. Evaluation of colostrum as an alternative biological sample for the diagnosis of human congenital toxoplasmosis. **BMC Infectious diseases**, v.15, n 1, p. 1-13, 2015. DOI: https://doi.org/10.1186/s12879-015-1242-z. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1186/s12879-015-1242-z, Acesso em: 28 abr. 2022.

ONUMA, S. S. M. et al. Exposure of free-living jaguars to *Toxoplasma gondii*, Neospora caninum and Sarcocystis neuroma in the Brazilian Pantanal. ***Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária***, v. 23, n. 4, p. 547-553, 2014.

OTA, T. *et al*. First case report of possible Sarcocys tistruncata-induced food poisoning in venison. **Internal Medicine**, v. 58, n. 18, p. 2727–2730, 2019. DOI: 10.2169/internalmedicine.2817-19. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/58/18/58_2817-19/_pdf/-char/en. Acesso em: 28 abr. 2022.

PATTON, S. An Overview of Avian Coccidia. Scientific Proceedings of the **Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians**, Nashville, TN, p. 47-51, 1993.

PEREIRA FILHO, G. A.; MONTINGELLI, G. G. Checklist of snakes from the Brejos de altitude of Paraíba and Pernambuco, Brazil. **Biota Neotropica** v. 11, n. 3, p.145-151, 2011. DOI:10.1590/S1676-06032011000300011. Disponível em: https://www.scielo.br/j/bn/a/GMYjTpbcwtFQYW9YLLnkBcL/?lang=en. Acesso em: 28 abr. 2022.

PEREIRA, D. A. *et al*. Isospora belli: Aspectos Clínicos e Diagnóstico Laboratorial. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 41, n. 4, p. 283-286, 2009. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/08/RBAC_Vol41_n4-Completa.pdf. Acesso em: 28 abr. 2022.

PEREIRA, L. Q. ***Isospora bocamontensis* (Pereira et al., 2011) (Protozoa: Apicomplexa) em cardeais-amarelo *Gubernatrix cristata* (Vieillot) (Passeriformes: *Emberezidae*)**. 2011. 50 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, RS,2011. Dispoível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/10095/PEREIRA%2c%20LARISSA%20QUINTO.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 28 abr. 2022.

PRAKAS, P.; BUTKAUSKAS, D. Protozoan parasites from genus *Sarcocystis* and their investigations in Lithuania. **Ekologija**, v. *58*, n. 1, p. 45-58, 2012. Disponível em: https://gamtostyrimai.lt/uploads/publications/docs/365_e040f5419556efba78a09b51c835a418.pdf. Acesso em: 28 abr. 2022.

ROSENTHAL, B. M. Zoonotic *Sarcocystis*. **Research Veterinary Science**, v. 136, p. 151–157, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.02.008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528821000448. Acesso em: 28 abr. 2022.

RÊGO, W. M. F. *et al*. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates obtained from free-living wild birds rescued in Southeastern Brazil. International Journal for Parasitology: **Parasites and Wildlife**, v. 7, n. 3, p. 432-438, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.11.001. Disponível em: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221322441830083X. Acesso em: 28 abr. 2022.

RÊGO W. M. F. *et al*. *Sarcocystidae* in wild birds of southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 30, n. 1, 2021. DOI: https://doi.org/10.1590/S1984-296120201094. Disponível em: https: www.scielo.br/j/rbpv/a/b4t6pXN9z6p7k5TGN3WfvLt/?lang=en&format=html. Acesso em: 28 abr. 2022.

SÁNCHEZ-CORDÓN, P.J. *et al*. Atoxoplasma spp. Infection in captive canaries (Serinus canaria). **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 54, n. 1, p. 23–26, 2007. DOI: 10.1111/j.1439-0442.2007.00909.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0442.2007.00909.x. Acesso em: 28 abr. 2022.

SANTOS, A. S. *et al*. **Bioma caatinga**: abordagem nos livros de ciências e geografia do Ensino fundamental. 2017. 2017. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, 2017. Disponível em: http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/17575. Acesso em: 28 abr. 2022.

SPEER, C. A. *et al*. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1509–1519, 1999. DOI: 10.1016/s0020-7519(99)00132-0. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10608436/. Acessso em: 28 abr. 2022.

SILVA, R. C. et al. Detections of antibodies of *Toxoplasma gondii* in wild animals in Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, v. 20, p. 1-4, 2014.

SULLIVAN, W. J. J.; JEFFERS, V. Mechanisms of *Toxoplasma gondii* persistence and latency. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 3, p. 717–733, 2012. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00305.x. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3319474/. Acesso em: 28 abr. 2022.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii:* from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12–13, p. 1217–1258, 2000. DOI: 10.1016/s0020-7519(00)00124-7. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109627/. Acesso em: 28 abr. 2022.

VARJABEDIAN, R. Lei da Mata Atlântica: retrocesso ambiental. **Estudos avançados**, v. 24, n. 68, p. 147-160, 2010. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-40142010000100013. Disponível em: https://www.scielo.br/j/ea/a/YNyPHMty8xqcsfcknsqkqmv/abstract/?lang=pt. Acesso em: 28 abr. 2022.

VANWORMER, E.et al. Using molecular epidemiology to track *Toxoplasma gondii* from terrestrial carnivores to marine hosts: Implications for public health and conservation. ***PLOS Neglected Tropical Diseases***, v. 8, n. 5, p. 1-14, 2014.

WEISS, L. M.; KIM, K. The development and biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. **Frontiers in Bioscience** , v. 5, n. 4, p. D391–D405, 2000. DOI: 10.2741/weiss. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109641/. Acesso em: 28 abr. 2022.

YILMAZ, S. M.; S. H. Hopkins. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. **Journal of Parasitology**, v. 58, n. 5, p. 938–939, 1972. DOI: 10.2307/3286589. Disponível em: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19732900812. Acesso em: 28 abr. 2022.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Contribuir com dados epidemiológicos sobre a ocorrência de protozoários da família Sarcocystidae em aves e mamíferos silvestres de vida livre e mantidos em cativeiro.

4.2 Objetivos Específicos

Estudar a ocorrência de anticorpos (IgG) anti-*T. gondii* e o DNA de *Toxoplasma gondii* em cutias, catetos de cativeiro e tatus de vida livre no bioma Caatinga por meio do teste de Aglutinação Modificada e Nested PCR.

Identificar o DNA de protozoários da família Sarcocystidae em amostras de tecidos de aves e mamíferos silvestres do bioma Caatinga e animais mantidos no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Pernambuco.

5. CAPÍTULO 1

Artigo submetido à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Ocorrência de anticorpos e DNA de *Toxoplasma gondii* em mamíferos silvestres do bioma Caatinga

Gabriela Hémylin Ferreira Moura*[1]; Renata Pimentel Bandeira de Melo[2]; Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira[1]; Itainara Taili da Silva Freitas[3]; Vanessa Silva Santana[3]; Cecilia Irene Perez Calabuig[3]; Moacir Franco de Oliveira[4]; Carlos Iberê Alves Freitas[5]; Rinaldo Aparecido Mota[1]

[1]Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, PE, Brasil.
[2]Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil
[3]Laboratório de Conservação e Ecologia da Vida Silvestre, Departamento de Biociência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN.
[4]Laboratório de Morfofisiologia Animal, Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido– UFERSA, Mossoró, RN.
[5]Laboratório de Estudos em Imunologia e Animais Silvestres, Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido– UFERSA, Mossoró, RN.
*Autor correspondente: Gabriela Hémylin Ferreira Moura. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife/PE. (81) 3320-6425, E-mail:gabi.hemylin@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-6438-8572

Resumo: Objetivou-se neste estudo pesquisar a ocorrência de anticorpos e DNA da família Sarcocystidae em 29 tatus-peba (*Euphractus sexcinctus),* 16 catetos (*Pecari tajacu)* e 10 cutias (*Dasyprocta leporina),* totalizando 55 animais de vida livre do bioma Caatinga, região nordeste do Brasil. A pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* foi feita pela Técnica de Aglutinação Modificado (MAT), utilizando ponto de corte de 25 para tatu-peba e 16 para as outras espécies. O DNA da família Sarcocystidae foi detectado em encéfalo por meio da Nested PCR, seguida do sequenciamento. Foram encontrados anticorpos em 7/29 (24,13%) tatus-peba, 6/16 (37,5%) catetos e ausência de anticorpos nas cutias. Em 6/9 (31,57%) tatus-pebas positivos na sorologia foi confirmada a presença de DNA de *Toxoplasma gondii* no sequenciamento, porém nenhum dos catetos foi positivo. A presença de anticorpos e DNA de *Toxoplasma gondii* confirma a infecção em *Euphractus sexcinctus* no bioma caatinga e em *Pecari tajacu* mantidos em cativeiro em centro de conservação da espécie. Os resultados alertam para o risco do consumo da carne crua ou mal cozida desses animais pela população local.

Palavras-chave: Nordeste do Brasil, Animais Silvestres, Toxoplasmose, Protozoário.

Abstract: The objective of this study was to investigate the occurrence of antibodies and DNA of the Sarcocystidae family in 29 giant armadillos (*Euphractus sexcinctus),* 16 collared peccaries (*Pecari tajacu)* and 10 agoutis (*Dasyprocta leporina),* totaling 55 free-living animals from the Caatinga biome, northeastern Brazil. The search for anti- *T. gondii antibodies* was performed using the Modified Agglutination technique (MAT), using a cut-off point of 25 for armadillo and 16 for the other species. Sarcocystidae family DNA was detected by Nested PCR, followed by sequencing. Antibodies were found in 7/29 (24.13%) armadillos, 6/16 (37.5%) collared peccaries and absence of antibodies in the agoutis. In 6/9 (31.57%) positive armadillos in serology, the presence of *Toxoplasma gondii DNA* in the sequencing was confirmed, but none of the collared peccaries were positive. The presence of *Toxoplasma gondii antibodies and DNA* confirms the infection in *Euphractus sexcinctus* in the caatinga biome and in *Pecari tajacu* kept in captivity in a conservation center for the species. The results alert to the risk of consumption of raw or undercooked meat of these animals by the local population.

Keywords: Northeast of Brazil, Wild animals, Toxoplasmosis, Protozoan.

Introdução

O bioma Caatinga ocupa cerca de 11% do território brasileiro, sendo exclusivo do Brasil e abriga uma quantidade expressiva de vertebrados silvestres, dentre os quais já foram cadastradas aproximadamente 148 espécies de mamíferos. Além destas, destacam-se as espécies consideradas cinegéticas que são comumente caçadas, e inclusive utilizadas para consumo humano, o que pode oferecer riscos de propagação de enfermidades zoonóticas (MARVULO e CARVALHO, 2014). A Caatinga abriga ao todo 182 espécies de animais ameaçados, e, destes, 46 existem apenas nesse bioma. Um deles é a arara-azul-de-lear (Anodorhynchus leari), que é alvo de ações de preservação e se tornou um símbolo da biodiversidade do sertão junto com felinos como a onça-parda e a onça-pintada. Essa última quase desapareceu do semiárido nos últimos anos, principalmente devido à expansão de atividades agropecuárias que, segundo pesquisadores, já devastaram mais de 50% da vegetação nativa (FIGUEIREDO, 2019).

Apesar de ser proibida pela Legislação Federal Brasileira (Lei n° 5197 de 03 de janeiro de 1967), a ingestão de carne de animais silvestres ainda constitui uma fonte alimentar frequente, especialmente nas áreas rurais do Brasil. Tal prática pode contribuir para a disseminação de patógenos como *Toxoplasma gondii* causador da toxoplasmose (CAPELLÃO et al., 2015; DOMOZYCH et al., 2016).

A toxoplasmose é uma das protozoonoses mais propagadas no mundo e seu agente etiológico é um parasito intracelular obrigatório de distribuição geográfica mundial e ciclo de vida heteroxeno facultativo. Os hospedeiros intermediários são todos os animais homeotérmicos, e os hospedeiros definitivos são os membros da família Felidae (TENTER, 2009). *T. gondii* tem propensão para infectar células nucleadas de uma vasta variedade de espécies animais, incluindo aves, mamíferos silvestres e humanos, o que desperta o interesse de estudos na área médica e veterinária (DUBEY, 2010; TAYLOR et al., 2010).

Os animais homeotérmicos incluídos na classe Mammalia como as cutias (*Dasyprocta leporina)* Lichtenstein (1823) e os catetos (*Pecari tajacu)* Linnaeus (1758) são comumente apreendidos pelo homem para o consumo, constituindo-se em uma fonte alternativa de proteína (SILVA et al., 2010). A criação de animais silvestres em cativeiro é uma alternativa para preservação de espécies ameaçadas de extinção e isso favorece o interesse no desenvolvimento de pesquisas com o propósito de garantir a sanidade e conservação (MENDONÇA et al., 2006). Em virtude da boa adaptação à vida em cativeiro, a construção de criatórios de cutias e catetos tem sido disseminada no semiárido brasileiro (BATISTA et al., 2009; BATISTA et al., 2010), sendo esta atividade comercial amparada pela Instrução Normativa n° 07/2015 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA.

Os tatus (gênero *Euphractus*) pertencem também à classe Mammalia e das 21 espécies descritas globalmente, 11 ocorrem no Brasil. No Nordeste brasileiro, onde predomina o bioma Caatinga, o tatu-peba (*Euphractus sexcinctus)* Linnaeus (1758) é a espécie mais prevalente (MEDRI, 2008). Esses animais têm se destacado como fonte de infecção de patógenos para seres humanos, associados à transmissão de doença de Chagas (NOIREAU et al., 2009), leishmaniose (FORNAZARI, et al., 2014) e toxoplasmose (VITTALIANO, 2012), sendo muitas vezes hospedeiros e reservatórios, especialmente nas zonas rurais (CAPELLÃO et al., 2015).

As doenças infecciosas com potencial zoonótico não se limitam apenas aos prejuízos que causam à vida silvestre, mas também acarretam graves problemas à saúde pública. Assim, estes animais podem constituir como fonte de infecções virais, bacterianas e parasitárias, podendo atingir os seres humanos (SEIMENIS, 2008) e acredita-se que aproximadamente 75% das doenças que apareceram nos últimos anos têm origem na fauna silvestre (BENGIS, et al., 2004).

Objetivou-se neste estudo investigar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cutias e catetos mantidos em cativeiro e tatus-peba de vida além de identificar o DNA de protozoários da família Sarcocystidae em catetos e tatus-peba do bioma caatinga.

Material e Métodos

Aspectos éticos

O estudo foi autorizado pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), licença número 030/2019, e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO, licença número 64186-1.

Área de estudo e amostras biológicas

Os animais de vida livre foram capturados no Bioma Caatinga que corresponde a uma grande área geográfica, localizada em sua maior parte no Nordeste do Brasil. Suas características edafoclimáticas, precipitações e temperaturas definem uma vegetação tropical com períodos de seca (ALBUQUERQUE et al., 2012), os quais podem chegar até 11 meses por ano (AB'SABER, 1974).

Para a sorologia foram analisadas 29 amostras de tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) de vida livre, 10 cutias (*Dasyprocta leporina)* e 16 catetos (*Pecari tajacu)* de cativeiro. Os tatus-peba foram provenientes de cinco municípios (Pendências, Macau, Afonso Bezerra, Guamaré, Pedro Avelino) do estado do Rio Grande do Norte.

Para a pesquisa do DNA de protozoários da família Sarcocystidae em catetos e tatus-peba do bioma Caatinga foram utilizadas amostras dos animais que vieram a óbito, sendo analisados 6 catetos e 19 tatus-peba. Não foi utilizado tecido das cutias para a PCR, pois nenhuma morreu durante o experimento.

Estes animais foram resgatados pela polícia ambiental, por maus tratos e por estarem presos de forma ilegal para consumo de famílias de baixa renda. As cutias e catetos vivem em recintos separados de acordo com a espécie, e foram oriundos do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Campus Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

Para a coleta de sangue, os tatus-peba foram inicialmente submetidos à medicação pré-anestésica com cloridrato de xilazina 2% (1m/kg) (Vetnil, part 003.17) e cloridrato de cetamina 10% (10 mg/kg) (Vetnil, part 002.17) de acordo com o peso de cada animal, sendo então coletados 3 mL de sangue na veia femoral ou caudal. Em cutias e catetos foi realizada contenção mecânica utilizando puçá procedendo-se à coleta de alíquotas de 2 mL e 5 mL respectivamente na veia cefálica ou safena. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1500×g por 10 minutos para obtenção de soro que foi aliquotado para microtubos armazenados em freezer - 20°C até o momento das análises. Todas as amostras de soro foram transportadas ao laboratório para as análises sorológicas.

Análise sorológica

Para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* empregou-se o Teste de Aglutinação Modificado (MAT), utilizando-se como antígeno taquizoítos da cepa ME49, de acordo com o protocolo descrito por Desmonts e Remington (1980). Foram incluídos no teste controles positivos e negativos em todas as reações. Para os tatus-peba foi utilizado ponto de corte 25 e diluições 50, 100 e 200 (DUBEY; DESMONTS, 1987). Já para as cutias e os catetos foi utilizado ponto de corte 16 e as diluições 32, 64 e 128 (ULLMANN et al., 2017; YAMAKAWA et al., 2020).

Detecção molecular de protozoários da família Sarcocystidae

A pesquisa de DNA da família Sarcocystidae foi realizada em fragmentos de encéfalo e coração dos animais que vieram a óbito. Inicialmente foram pesados e macerados 25 mg de cada tecido e, em seguida, foram submetidos ao processo de extração de DNA utilizando-se o *kit* comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega®). Após a extração, as amostras foram amplificadas por *nested* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para o gene 18s do DNA ribossomal (18S rDNA) de protozoários Apicomplexa, primeiramente usando 2µM dos *primers* externos

Tg18s48F (5’-CCATGCATGTCTAAGTATAAGC-3') e Tg18s359R (5'-GTTACCCGTCACTGCCAC-3'), seguido da amplificação com 2µM dos *primers* internos Tg18s58F (5'-CTAAGTATAAGCTTTTATACGGC-3') e Tg18s348R (5’-TGCCACGGTAGTCCAATAC-3'), de acordo com protocolo descrito por Su et al. (2010) e Melo et al. (2020). Os produtos da *nested* PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com Blue Green (LGC®) e fotodocumentados.

As bandas de gel dos produtos da *nested* PCR marcadas positivamente para o gene 18S rDNA foram purificados utilizando-se o kit de purificação QIAquick Gel Extraction (Qiagen®), de acordo com o protocolo do fabricante. Os produtos foram sequenciados bidirecionalmente, usando o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems). Os oligonucleotídeos utilizados para sequenciamento foram os mesmos aplicados na segunda amplificação (Tg18s58F e Tg18s348R). A reação de sequenciamento foi realizada por separação eletroforética capilar no sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Os dados do sequenciamento foram coletados, utilizando-se o *software* Data Collection (Applied Biosystems) e, em seguida, a inspeção da qualidade foi realizada usando o Sequencing Analysis Software (Applied Biosystems). As sequências foram analisadas pelo Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA) e comparadas com o banco de dados do GenBank usando o Basic Alignment Search Tools (BLAST) no National Center for Biotechnology Information (NCBI - www.ncbi.nlm.nih.gov) para a identificação de gêneros ou espécies.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados utilizando-se análise descritiva para cálculo de frequências absoluta e relativa (SAMPAIO, 2002).

Resultados e Discussão

Detectou-se anticorpos anti-*T. gondii* em 7/29 (24,13%) tatus-peba e 6/16 (37,5%) catetos (Tabela 1). Não foram detectados anticorpos nas cutias. O resultado do sequenciamento do DNA da família Sarcocystidae identificou 6/19 (31,57%) positivos para os tatus-peba com 99% de similaridade com *Toxoplasma gondii.* Todos os catetos foram negativos na PCR.

Tabela 1. Frequência e título de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*), catetos (*Pecari tajacu*) e cutias (*Dasyprocta leporina)* analisados pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT). Identificação de protozoários Apicomplexa por *nested* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em amostras dos tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*).

Espécies	**Sorologia**						**PCR**
	Animais Positivos	**Total de animais**	**Títulos de anticorpos**				
			25	**50**	**100**	**200**	
Tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*)	7 (24,13%)	29	4	0	1	2	6/19 (31,57%)
			Títulos de Anticorpos				
			16	**32**	**64**	**128**	
Cateto (*Pecari tajacu)*	6 (37,5%)	16	2	2	2	0	0/6 (0%)
Cutia *(Dasyprocta leporina)*	0	10	-	-	-	-	NR

NR: Não realizado

Toxoplasma gondii é um dos parasitos mais disseminados no mundo e infecta várias espécies de animais de sangue quente. Utilizou-se a técnica de MAT, pois diferentemente de outros testes, este não necessita de um conjugado espécie-específico, possibilitando sua aplicação para diversas espécies animais, incluindo as silvestres. Além disso, não requer equipamento para leitura, é de fácil operação e baixo custo (DUBEY, 2010).

Estudos anteriores que realizaram a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* por MAT em tatus-peba no bioma Caatinga e detectaram frequência de 6% (2/33) (BARBOSA et al, 2020). Em nosso estudo também analisamos animais deste mesmo bioma, porém a frequência de animais positivos foi superior.

Em pesquisa realizada na região Sul do Brasil com catetos do Zoológico de Curitiba-PR foi encontrada uma frequência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* de 31,8% (7/22), com títulos variando de 16 a 1024 (ULLMANN et al., 2017). Outro estudo realizado no Parque Zoobotânico de João Pessoa-PB detectou um cateto positivo no MAT com título elevado de anticorpo (400) (PENA et al., 2016), indicando uma

infecção recente. Em nosso estudo, o maior título de anticorpos detectado para a espécie foi 64, em dois animais, sugerindo infecção crônica.

Os resultados nos diferentes estudos podem variar por diversos fatores como a temperatura, umidade, condições sanitárias, as características dos animais amostrados como idade, sexo e a presença do hospedeiro definitivo (TENTER et al., 2000). As características ambientais podem interferir na ocorrência, transmissão e distribuição de *T. gondii* em mamíferos selvagens e domésticos (YAN et al., 2016). Outra pesquisa sorológica realizada com várias espécies de mamíferos na região sudeste do Brasil analisou apenas uma amostra de tatu-peba que foi positiva para anticorpos contra *T. gondii* (VITALIANO et al., 2014).

Kluyber et al. (2021) realizaram estudo com o objetivo de diagnosticar a presença de parasitas zoonóticos, incluindo *Toxoplasma gondii* em quatro espécies de tatus capturados na natureza de dois ecossistemas brasileiros diferentes, o Cerrado (savana brasileira) e o Pantanal (zona úmida). Foram amostrados 43 tatus de vida livre do Pantanal e sete tatus atropelados do Cerrado. Anticorpos anti-T. gondii foram detectados em 13 dos 43 (30,2%) tatus. Os humanos têm uma relação direta com os tatus, causando impactos negativos nas populações, geralmente matando-os por crenças culturais, caçando remédios, principalmente na América Latina (Rodrigues et al., 2020). Na América do Sul, os tatus são caçados para alimentação devido ao seu sabor e alto teor de proteína, sendo considerados espécies relevantes para a saúde pública, pois podem transmitir vários agentes infecciosos por meio do contato ou consumo de sua carne (Deps et al., 2008; Richini-Pereira et al., 2009).

O hábito alimentar do tatu-peba, caracterizado por uma dieta variada com produtos de origem vegetal, animal e até restos de animais mortos (CAJAIBA et al., 2015) predispõe à infecção por *T. gondii*. Esses animais têm o hábito de cavar tocas e buracos, favorecendo o contato com oocistos presentes no solo e participam da manutenção do ciclo do protozoário no ambiente silvestre. Destaca-se, ainda, que o Brasil possui uma grande diversidade de fauna silvestre, inclusive de felídeos, que são hospedeiros definitivos de *T. gondii* e podem contaminar o solo pela eliminação de oocistos nas suas fezes. Além disso, as espécies analisadas no nosso estudo podem ser fonte de alimento para os felídeos silvestres (CAPELLÃO et al., 2015) e acreditamos que isso possa favorecer o ciclo silvestre de *Toxoplasma gondii*.

O consumo de tatus infectados pelas famílias da zona rural é um risco para a saúde, principalmente para indivíduos imunocomprometidos (ELBEZ-RUBINSTEIN et al., 2009; LINDSAY, DUBEY, 2011). Estudo realizado em assentamentos rurais no estado do Pará, região da Amazônia Legal, investigou espécies de animais silvestres utilizados como recurso alimentar, identificando 38 espécies que são caçadas para consumo. Dentre estas, *Euphractus sexcinctus* e *Pecari tajacu* foram as mais citadas pelos entrevistados (154/163 e 137/163, respectivamente) em todos os assentamentos. Além disso, também foi mencionado de forma significativa o consumo de *Dasyprocta* spp. (117/163) (CAJAIBA et al., 2015). A presença e a viabilidade de cistos de *T. gondii* em tecidos de tatu-peba já foi comprovada por Vitaliano et al. (2014). Ainda, é importante destacar que a carne de animais silvestres utilizados para consumo humano, muitas vezes não sofre um processo de cocção adequado, sendo consumida mal passada (BARBOZA et al., 2016), o que representa um fator de risco para a infecção por *T. gondii* (DUBEY; JONES, 2008).

No bioma Caatinga o hábito do consumo de tatus é bastante difundido, assim como em outras regiões do país. Os resultados obtidos no nosso estudo quanto a presença de DNA de *T. gondii* é preocupante do ponto de vista da saúde dos consumidores desta carne, pois esses não têm acesso a informações sobre a cadeia de transmissão deste protozoário.

Assim como nos estudos anteriormente mencionados, não foi possível determinar o momento e a fonte de infecção dos catetos soropositivos do centro de animais silvestres. Os animais recebem alimentação comercial e água à vontade, no entanto relata-se a presença de felídeos domésticos e silvestres em áreas próximas aos recintos, o que pode levar à contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* e assim favorecer a infecção.

As cutias analisadas neste estudo foram negativas. Esses animais se encontram em um recinto exclusivo para a espécie, recebendo alimentação à base de ração e água de poço à vontade. Acredita-se que em decorrência do manejo higiênico sanitário adotado no centro de criação não foram encontrados animais positivos.

Outro aspecto importante de estudos que envolvem a identificação de patógenos em animais silvestres é a medicina da conservação, onde os estudiosos tentam assimilar o processo das doenças nas populações animais e sua consequência na saúde animal e humana (AGUIRRE et al., 2012). As pesquisas sobre a epidemiologia

das zoonoses em animais silvestres, sejam de cativeiro ou vida livre, são de grande importância para ampliação do conhecimento dos focos naturais, permitindo indicar os principais fatores de risco presentes em cada ecossistema. Além de favorecer a compreensão correta da cadeia epidemiológica dos agentes zoonóticos entre os animais silvestres, e a importância local, regional ou nacional das doenças, induz a formação e preparação para os serviços veterinários e de saúde pública (ALMEIDA, 2017).

Conclusão

A detecção de anticorpos e DNA de *Toxoplasma gondii* confirma a presença deste coccídio em tatu-peba no bioma caatinga e em catetos mantidos em cativeiro em centro de conservação da espécie. Estes resultados alertam para o risco do consumo da carne crua ou mal cozida desses animais pela população local.

Referências

Ab'Saber AN. The morphoclimatic semi-arid domain of Brazilian caatingas. *Geomorphology* 1974; 1(26): 43.

ALMEIDA, J.C.; MELO, R.P.B.; PEDROSA, C.M.; SANTOS, M.S.; BARROS, L.D.; GARCIA, J.L.; PORTO, W.J.N.; MOTA, R.A. First isolation and RFLP genotyping of Toxoplasma gondii from crab-eating fox (Cerdocyon thous - Linnaeus, 1766). Acta Tropica, v. 169, p. 26-29, 2017.

de Albuquerque UP, de Lima Araújo E, El-Deir ACA, de Lima ALA, Souto A, Bezerra BM, et al. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. SCI 2012. [Editor1] [UdW2] https://doi.org/10.1100/2012/205182

Barboza RRD, Lopes SF, Souto WM, Fernandes-Ferreira H, et al. The role of game mammals as bushmeat in the Caatinga, northeast Brazil. *Ecology and Society* 2016; 21(2): 1-11. http://dx.doi.org/10.5751/ES-08358-210202

Batista JS, Bezerra FSB, Agra EGD, Calado EB, Godói RM, Rodrigues CMF, et al. Effects of physical and chemical restraint on stress indicator parameters in *collared peccary* (*Tayassu tajacu*). *Acta Veterinaria Brasilica* 2009; 3: 92-97.[Editor3] [UdW4]

Batista JS, Olinda RG, Silva TM, Rodrigues CMF, Oliveira AF, Queiroz SAC, et al. Diseases of agouti (*Dasyprocta aguti*) raised in captivity diagnosed by anatomopathological examination. *Research Veterinary Brasileira* 2010; 30: 497-502. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000600005

Bengis RG, Leighton FA, Fischer JR, Artois M, Morner T, et al. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses. *OIE Revue scientifique et technique* 2004; 23 (2): 497-512. https://doi.org/20506/RST.23.2.1498

Cajaiba, RL, da Silva WB, et al. Wild animals used as a food resource in rural settlements in the municipality of Uruará, Pará, Brazil. Development and Environment 2015; 34: 157-168.

Capellão, RT, Ana L, Cibele R. Bonvicino. "Natural infection by zoonotic agents in armadillos (*Mammalia*: *Cingulata*) in South America." *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia* 2015; 73: 23-36

Desmonts G. Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *Journal of Clinical Microbiology* 1980; 11(6): 562-568. https://doi.org/10.1128/jcm.11.6.562-568.1980

Deps, P. D., Alves, B. L., Gripp, C. G., Aragao, R. L., Guedes, B., Filho, J. B., Andreatta, M. K., Marcari, R. S., Prates, I., & Rodrigues, L. C. (2008). Contact with armadillos increases the risk of leprosy in Brazil: A case control study. Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, 74(4), 338–342. https://doi.org/10.4103/0378-6323.42897

Domozych R, Kim E, Hart S, et al. Increasing incidence of leprosy and transmission from armadillos in Central Florida: A case series. *JAAD Case Reports* 2016; 2(3), 189-192. https://doi.org/10.1016/j.jdcr.2016.03.004

Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans, CRC Press; 2010.

Dubey JP. et al. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens 838 from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. *Journal Parasitology,* 2010; 96 (4): 709–712. https://doi.org/10.1645/GE-2425.1

Dubey JP, Jones JL. "*Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States." *International Journal for Parasitology* 2008; 38(11):1257-1278. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.007

Dubey JP, and G Desmonts. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Veterinary* Journal 1987; 19: 337–339. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1987.tb01426.x

Elbez-Rubinstein A, Ajzenberg D, Dardé ML, Cohen R, Dumètre A, et al. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. *Journal of Infectious Diseases* 2009; 199, 280–285. https://doi.org/10.1086/595793

Feitosa, TF, Brasil, AWDL, Parentoni, RN, Vilela, VLR, Nety, TFL, & Pena, HFDJ (2018). Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in mammals, birds and reptiles at the zoological-botanical park in João Pessoa, Paraíba, Brazil. *Arquivo do Instituto Biológico 84, 1-5*.

Figueiredo, P. Caatinga tem 182 animais ameaçados; no país, quase 10% dos monitorados estão sob risco de extinção. 20/02/2019. G1 Natureza. Acesso em 28 de março de 2022. Disponível em: Caatinga tem 182 animais ameaçados; no país, quase 10% dos monitorados estão sob risco de extinção | Desafio Natureza | G1 (globo.com).

Fornazari F, Langoni H. Main zoonoses in wild mammals. *Veterinária e Zootecnia* 2014; 21(1): 10-24.

Institutes and regulates as categories of use and management of wild fauna in captivity, and defines, within IBAMA, the authorization procedures for the classified categories. [online] 2015 [cited 2020 jun 20] Available at https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Instrucao_normativa/2015/in_ibama_07_2015_institui_categorias_uso_manejo_fauna_silvestre_cativeiro.pdf.

Kluyber, Danilo, et al. Zoonotic parasites infecting free-living armadillos from Brazil. *Transboundary and emerging diseases*, 2021, 68.3: 1639-1651.

Lindsay, DS; Dubey, JP. *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis**.** *Parasitology* 2011; 138: 829–1831. https://doi.org/10.1017/S0031182011001478

Marvulo MFV; Carvalho VM. Zoonoses. In: Cubas ZS; Silva, JCR; Catão-Dias JL. Treatise on Wild Animals: Veterinary Medicine**.** 2nd ed. São Paulo: Roca; 2014. p. 2194–2206.

Medri IM. *Ecology and natural history of the armadillo, Euphractus sexcinctus (Linnaeus, 1758), in the Nhecolândia wetland, Mato Grosso do Sul*. [Tese]. Universidade de Brasilia, 2008.

Mendonça IL, Almeida MM, Conde Júnior AM, Cavalcante AR, Moura SG, et al. Coproparasitological analysis of agoutis (*Dasyprocta* sp.) raised in captivity. Ciência Animal Brasileira 2006; 7(3): 285-288.

Noireau F, Diosque P, & Jansen AM. (2009). *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. Veterinary research, 40(2), 1-23. https://doi.org/10.1051/vetres/2009009

Oliveira Barbosa WD, Coelho TG, Da costa TO, Paiz LM, Fornazari F, et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii*, *Leishmania* spp., and *Leptospira* spp. in Free-Ranging Six-Banded Armadillos (Euphractus sexcinctus) from Northeastern Brazil. Journal of Wildlife Diseases 2020; 56(2): 486-488. https://doi.org/10.7589/2019-06-165

RICHINI-PEREIRA, VB. et al. Importance of xenarthrans in the eco-epidemiology of Paracoccidioides brasiliensis. *BMC Research Notes*, 2009, 2.1: 1-6.

Rodrigues, TF.; Mantellatto, AMB. Superina, M.; Chiarello, AG. Ecosystem services provided by armadillos. Biol Rev, 2020; 95(1), 1–21. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/brv.12551

Sampaio IBM. Statistics applied to animal experimentation. Belo Horizonte: Foundation for Teaching and Research in Veterinary Silary Medicine and Animal Science 2002; 265.

Seimenis AM. The spread of zoonoses and other infectious diseases through the international trade of animals and animal products. *Veterinaria Italiana* 2008; 44: 591-599.

Silva AR. et al. Conservation of germplasm from wild animals of the Caatinga biome. *Acta Science Veterinary* 2010; 38: 373–389.

SU, C.; SHWAB, E.K.; ZHOU, P.; ZHU, X.Q.; DUBEY, J.P. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of Toxoplasma gondii. Parasitology, v. 137, p. 1-11, 2010.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL*. Veterinary Parasitology*, 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International. Journal of Parasitology* 2000; 30(12-13): 1217-1258. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7

Tenter, Astrid M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2009; 104 (2) 364-369. https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000200033

Ullmann LS, et al. Serosurvey of anti-Leptospira sp. and anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in capybaras and collared and white-lipped peccaries. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2017; 50(2), 248-250. https://doi.org/10.1590/0037-8682-0315-2016

Vitaliano SN, et al. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from Brazilian wildlife revealed abundant new genotypes. *International Journal for Parasitology - Parasites and Wildlife* 2014; v. 3, n. 3, p. 276-28z. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.09.003

Witter, Rute et al. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* in the Midwestern Brazil revealed high genetic diversity and new genotypes. *Acta Tropica* 2020; 212:105681. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105681

Yamakawa, AC, et al. Serosurvey of *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. in Free-range Agoutis (*Dasyprocta azarae*) from an Urban Area of Southern Brazil. *Journal Wildlife Diseases* 2020; 56(2): 472-474. https://doi.org/10.7589/2019-05-137

Yan, Chao et al. Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii. Parasites Vectors* 2016; 9(1): 1-7.

6. CAPÍTULO 2

Artigo submetido para a Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Ocorrência de protozoários da família Sarcocystidae em aves silvestres na região Nordeste do Brasil

Gabriela Hémylin Ferreira Moura[1], Gleyce Silva do Nascimento[1], Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira[1], Vanessa Silva Santana[2], Ayko Shimabuko[2], Cecilia Irene Perez Calabuig[2], Renata Pimentel Bandeira de Melo[3], Erika Fernanda Torres Samico Fernandes[1]; Rinaldo Aparecido Mota[1]

[1]Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, PE, Brasil.
[2]Laboratório de Conservação e Ecologia da Vida Silvestre, Departamento de Biociência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN.
[3]Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil.
*Autor correspondente: Gabriela Hémylin Ferreira Moura. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife/PE. (81) 3320-6425, E-mail:gabi.hemylin@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-6438-8572

Resumo: Os organismos da família Sarcocystidae são protozoários distribuídos mundialmente e com grande capacidade de infectar animais endotérmicos. O estudo destes protozoários em aves silvestres no Brasil é escasso. Objetivou-se neste estudo avaliar a ocorrência de protozoários Sarcocystidae em aves silvestres na região Nordeste do Brasil. No período de outubro a dezembro de 2019 foram coletadas amostras biológicas de 71 aves de cativeiro do Centro de Triagem de Animais Silvestres de Pernambuco (CETRAS-Tangara) e 25 aves de vida livre do bioma Caatinga no Rio Grande do Norte, totalizando 96 animais pertencentes a 41 espécies. Os fragmentos de encéfalo foram submetidos ao diagnóstico molecular por *nested* PCR para o gene 18s rDNA de protozoários Sarcocystidae, seguido por sequenciamento genético. Esse gene foi detectado em 25% (24/96) das amostras analisadas, e destas foi possível realizar o sequenciamento do DNA de 14 amostras, confirmando-se três gêneros: *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii* em amostras de oito espécies de aves (*Amazona aestiva*, *Coereba flaveola*, *Egretta thula*, *Paroaria dominicana, Sporophila nigricollis, Cariama cristata, Columbina talpacoti*, *Crypturellus parvirostris*). A ocorrência de coccídios da família Sarcocystidae nas aves silvestres demonstra a necessidade de intensificar as pesquisas nessa área para a conservação das aves silvestres nos biomas caatinga e mata atlântica.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii,* Sarcocystis spp., Isospora spp., Aves silvestres.

Abstract: Organisms of the Sarcocystidae family are distributed protozoa with a high capacity to infect endothermic animals. The study of these protozoa in wild birds in Brazil is scarce. The objective of this study was to evaluate the occurrence of the Sarcocystidae family in wild birds in the Northeast region of Brazil. From October to December 2019, biological samples were collected from 71 captive birds from the Pernambuco Wild Animal Triage Center (CETRAS-Tangara) and 25 free-living birds from the Caatinga biome in Rio Grande do Norte, totaling 96 animals belonging to 41 species. Brain fragments were subjected to molecular diagnosis by *nested* PCR for the 18s rDNA gene of the Sarcocystidae family, followed by genetic sequencing. This gene was detected in 25% (24/96) of the analyzed samples, and from these it was possible to perform DNA sequencing of 14 samples, confirming three genera: *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* in samples from eight bird species (*Amazona aestiva, Coereba flaveola, Egretta thula, Paroaria dominicana, Sporophila nigricollis, Cariama cristata, Columbina talpacoti, Crypturellus parvirostris*). The occurrence of coccidia of the Sarcocystidae family in wild birds demonstrates the need to intensify research in this area for the conservation of wild birds in the Caatinga and Atlantic Forest biomes.
Keywords: *Toxoplasma gondii, Sarcocystis* spp., Isospora spp., Wild birds.

Introdução

Os organismos da família Sarcocystidae são protozoários obrigatórios intracelulares, de ampla distribuição mundial, que possuem a capacidade de infectar uma ampla gama de animais endotérmicos, inclusive os humanos (DUBEY, 2010). Os membros desta família apresentam um complexo ciclo biológico, com distintos estágios infectantes, multiplicando-se de forma sexuada e assexuada (BESTEIRO, 2014). Destacam-se os protozoários dos gêneros *Eimeria, Cystoisospora, Isospora*, *Neospora, Sarcocystis* e *Toxoplasma* que apresentam importância clínico-epidemiológica para animais silvestres. Os rapinantes podem se infectar pela ingestão de hospedeiros intermediários infectados como pequenos roedores (KARAKAVUK et al., 2018), enquanto as aves não carnívoras podem se infectar pela ingestão de oocistos presentes em água, alimentos ou solo contaminados (LINDSAY et al., 2003).

O gênero *Sarcocystis* e a espécie *Toxoplasma gondii* são protozoários da família Sarcocystidae mais prevalentes em aves (LLANO et al., 2022). Estudos realizados em aves domésticas (*Gallus domesticus*) relatam elevada prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii*, sendo, em geral, hospedeiros assintomáticos (DUBEY et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2016). Por outro lado, já foram relatados casos de toxoplasmose aguda em aves silvestres. Em canários (*Serinus canaria*) foi reportado quadro clínico severo de encefalite e toxoplasmose ocular, incluindo cegueira, no Uruguai, Austrália, Itália, Nova Zelândia e Reino Unido (DUBEY, 2002), sendo descritos sinais clínicos compatíveis com coriorretinite não supurativa com presença de macrófagos e taquizoítos de *T. gondii* no espaço subretinal, além de agregados de taquizoítos nas fibras nervosas da retina e presença de cistos nas meninges e no cerebelo (WILLIAMS et al., 2001).

Outro protozoário que merece destaque para aves silvestres é *Sarcocystis* spp. Os hospedeiros definitivos deste gênero são os carnívoros predadores que se infectam ao ingerir cistos teciduais (sarcocistos maduros) presentes na musculatura dos hospedeiros intermediários, enquanto estes, por sua vez, se infectam pela ingestão de água ou alimentos contaminados com esporocistos eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos (PRAKAS; BUTKAUSKAS, 2012; DUBEY et al., 2015). As aves podem ser hospedeiras definitivas e/ou intermediárias de várias espécies de *Sarcocystis*, destacando-se algumas que possuem potencial patogênico. Mais de 25 espécies deste protozoário são capazes de formar cistos no tecido muscular de aves, destacando-se *S. falcatula* e *S. calchasi,* que podem ser altamente patogênicas para Passeriformes, Psittaciformes e Columbiformes (KUTKIENÈ et al., 2012; DUBEY et al., 2015).

Outro gênero bastante estudado nas aves pelo impacto negativo à saúde é *Eimeria*, protozoário que acomete os enterócitos, causando a eimeriose (coccidiose). De acordo com Oliveira et al. (2017), aves em situação *ex situ* podem se apresentar assintomáticas em ambientes intactos, de modo que a manifestação de sinais clínicos comuns a esta enfermidade, como caquexia e diarreia, pode sinalizar um desequilíbrio ambiental. Os protozoários do gênero *Isospora* spp. geralmente parasitam enterócitos de aves e são responsáveis por doenças entéricas. A transmissão ocorre, frequentemente, pela via fecal-oral e são caracterizados pelo ciclo de vida direto. São espécie-específicas e frequentemente observadas em Passeriformes (COELHO,

2012). A doença clínica está associada a situações de estresse, imunossupressão e aves jovens (SATO et al., 2021).

Estudos sobre a ocorrência de protozoários da família Sarcocystidae em aves silvestres na região nordeste do Brasil são de fundamental importância devido ao impacto no desequilíbrio dos biomas desta região (NÓBREGA ALVES et al., 2012). Esses biomas apresentam mais de 800 espécies endêmicas, das quais, cerca de 45% das espécies da Mata Atlântica estão em processo de extinção, ameaçadas pelo tráfico e desmatamento, o que, associado à urbanização desordenada, facilita e intensifica o estabelecimento de novas interações entre hospedeiros e parasitos (SILVA, 2006).

Diante dessa problemática e da escassez de dados sobre a ocorrência desses protozoários em animais silvestres no Brasil, objetivou-se neste estudo identificar protozoários da família Sarcocystidae em aves silvestres de um centro de triagem e reabilitação de animais silvestres e aves de vida livre na região Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

Amostras biológicas

Foram coletadas amostras de 71 aves silvestres de 27 espécies, procedentes do Centro de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres de Pernambuco (CETRAS-Tangara), vinculado à Agência Estadual de Meio Ambiente de Pernambuco (CPRH). Essas aves foram encontradas mortas nos recintos e submetidas à necropsia para coleta de fragmentos de encéfalo. Este Centro abriga centenas de aves silvestres de diferentes espécies, provenientes de entrega voluntária, apreensão de tráfico e feiras livres por agentes de fiscalização. Além disso, também foram coletadas 26 amostras de aves silvestres de vida livre de 14 espécies na região semiárida do bioma Caatinga, estado do Rio Grande do Norte. As informações sobre os animais analisados no estudo estão dispostas na tabela 1.

Tabela 1. Ordem taxonômica, nome comum, nome científico, número de amostras e procedência das aves silvestres analisadas no estudo.

Ordem	Nome Comum	Nome Científico	Número de amostras	Procedência
Caprimulgiformes	Bacurau-chintã	*Hydropsalis parvula*	1	Rio Grande do Norte
Cariamiformes	Siriema	*Cariamidae*	7	Rio Grande do Norte
Columbiformes	Rolinha picui	*Columbina picui*	4	Rio Grande do Norte
	Rolinha roxa	*Columbina talpacoti*	1	Rio Grande do Norte
	Rolinha-de-asa-canela	*Columbina minuta*	1	Rio Grande do Norte
Cuculiformes	Anu-preto	*Crotophaga ani*	1	Rio Grande do Norte
	Papa-lagarta-acanelado	*Coccyzus melacoryphos*	1	Rio Grande do Norte
Gruiformes	Frango-d'água	*Porphyrio martinicus*	1	Pernambuco
Passeriformes	Bem-te-vi	*Pitangus sulphuratus*	4	Pernambuco
	Bico de veludo	*Schistochlamys ruficapillus*	1	Pernambuco
	Coleirinho	*Sporophila caerulescens*	1	Pernambuco
	Gralha-cancã	*Cyanocorax cyanopogon*	1	Rio Grande do Norte
	Coleirinho	*Sporophila caerulescens*	1	Rio Grande do Norte
	Craúna	*Gnorimopsar chopi*	3	Pernambuco
	Galo de campina	*Paroaria dominicana*	13	Pernambuco
			3	Rio Grande do Norte
	Guriatã	*Euphonia violacea*	1	Pernambuco
	Papa-capim	*Sporophila nigricollis*	7	Pernambuco
	Patativa	*Sporophila plumbea*	1	Pernambuco
	Sabiá laranjeira	*Turdus rufiventris*	2	Pernambuco

	Sanhaço cinzento	*Tangara sayaca*	2	Pernambuco
	Sabiá laranjeira	*Turdus rufiventris*	1	Rio Grande do Norte
	Sanhaço cinzento	*Tangara sayaca*	1	Rio Grande do Norte
	Sibito	*Coereba flaveola*	5	Pernambuco
	Tiziu	*Volatinia jacarina*	2	Pernambuco
	Trinca ferro	*Saltator maximus*	3	Pernambuco
Pelecaniformes	Garça branca pequena	*Egretta thula*	1	Pernambuco
Piciformes	Pica-pau-verde-barrado	*Colaptes melanochloros*	3	Pernambuco
Procellariiformes	Bobo grande	*Calonectris borealis*	1	Pernambuco
Psittaciformes	Jandaia gangarra	*Eupsittula cactorum*	1	Pernambuco
	Jandaia gangarra	*Eupsittula cactorum*	1	Rio Grande do Norte
	Maracanã pequena	*Diopsittaca nobilis*	1	Pernambuco
	Maritaca	*Pionus maximiliani*	1	Pernambuco
	Papagaio do mangue	*Amazona amazonica*	1	Pernambuco
	Papagaio moleiro	*Amazona farinosa*	1	Pernambuco
	Papagaio verdadeiro	*Amazona aestiva*	12	Pernambuco
Strigiformes	Coruja caburé	*Glaucidium brasilianum*	1	Pernambuco
	Coruja das torres	*Tyto furcata*	1	Pernambuco
	Corujinha da mata	*Megascops choliba*	1	Pernambuco
Tinamiformes	Inhambu-chororó	*Crypturellus parvirostris*	2	Rio Grande do Norte

Detecção molecular de protozoários da família Sarcocystidae

Os fragmentos de encéfalo foram macerados e pesados (25 mg), em seguida foram submetidos ao processo de extração de DNA utilizando-se o *kit* comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega®). Após a extração, as amostras foram amplificadas por *nested* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para o gene 18s do DNA ribossomal (18S rDNA) de protozoários Sarcocystidae, primeiramente usando 2µM dos *primers* externos Tg18s48F (5'-CCATGCATGTCTAAGTATAAGC-3') e Tg18s359R (5'-GTTACCCGTCACTGCCAC-3'), seguido da amplificação com 2µM dos *primers* internos Tg18s58F (5'-CTAAGTATAAGCTTTTATACGGC-3') e Tg18s348R (5'-TGCCACGGTAGTCCAATAC-3'), de acordo com protocolo descrito por Su et al. (2010) e Melo et al. (2020). Os produtos da *nested* PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com Blue Green (LGC®) e fotodocumentados.

As bandas de gel dos produtos da *nested* PCR marcados positivamente para o gene 18S rDNA foram purificados utilizando-se o kit de purificação QIAquick Gel Extraction (Qiagen®), de acordo com o protocolo do fabricante. Os produtos foram sequenciados bidirecionalmente, usando o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems). Os oligonucleotídeos utilizados para sequenciamento foram os mesmos aplicados na segunda amplificação (Tg18s58F e Tg18s348R). A reação de sequenciamento foi realizada por separação eletroforética capilar no sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Os dados do sequenciamento foram coletados, utilizando-se o *software* Data Collection (Applied Biosystems) e, em seguida, a inspeção da qualidade foi realizada usando o Sequencing Analysis Software (Applied Biosystems). As sequências foram analisadas pelo Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA) e comparadas com o banco de dados do GenBank usando o Basic Alignment Search Tools (BLAST) no National Center for Biotechnology Information (NCBI - www.ncbi.nlm.nih.gov) para a identificação de gêneros ou espécies.

Resultados

O DNA de protozoários da família Sarcocystidae foi detectado em 26,7% (19/71) das amostras de encéfalo de aves coletadas no CETRAS de Pernambuco. Com relação às aves de vida livre, 19,23% (5/26) foram positivas. Não foi possível obter

DNA amplificado em concentração e qualidade suficientes para sequenciamento e análise em todas as amostras positivas na PCR. Desta forma, 14 amostras foram sequenciadas, sendo nove amostras de aves do CETRAS e cinco amostras de aves de vida livre, e foram identificados três gêneros: *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii* (Tabela 2).

Tabela 2. Identificação de protozoários da família Sarcocystidae por *nested* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e sequenciamento genético em amostras de fragmentos de encéfalo de 14 aves silvestres da região nordeste do Brasil.

Nome comum	Espécie	Quantidade	Protozoário	Procedência
Siriema	*Cariama cristata*	3	*Toxoplasma gondii*	Rio Grande do Norte
Rolinha roxa	*Columbina talpacoti*	1	*T. gondii*	Rio Grande do Norte
Galo de campina	*Paroaria dominicana*	2	*T. gondii*	Pernambuco
		1	*Isospora* spp.	Pernambuco
Gralha-cancã	*Cyanocorax cyanopogon*	1	*T. gondii*	Rio Grande do Norte
Papa-capim	*Sporophila nigricollis*	2	*T. gondii*	Pernambuco
Sibito	*Coereba flaveola*	1	*Sarcocystis* spp.	Pernambuco
Garça branca pequena	*Egretta thula*	1	*T. gondii*	Pernambuco
Papagaio verdadeiro	*Amazona aestiva*	2	*T. gondii*	Pernambuco

Toxoplasma gondii foi o protozoário identificado com maior frequência nas aves do CETRAS-Tangara, detectado em dois galos de campina (*Paroaria dominicana)*, dois papa-capim (*Sporophila nigricollis),* dois papagaios verdadeiros (*Amazona aestiva*) e uma garça branca pequena (*Egretta thula*). *Isospora* spp. também foi identificado em um galo de campina e *Sarcocystis* spp. em um sibito, sendo este o primeiro relato deste gênero na espécie *Coereba flaveola* no Brasil. Nas aves de vida livre provenientes do bioma Caatinga no estado do Rio Grande do Norte, *T. gondii* foi o único protozoário identificado em uma rolinha roxa (*Columbia talpacoti)*, uma gralha-cancã (*Cyanocorax cyanopogon)* e três siriemas (*Cariama cristata).*

Discussão

No nosso estudo detectamos o DNA de protozoários da família Sarcocystidae em 24,74% (24/97) das amostras analisadas e identificamos *T. gondii* (12,37%; 12/97), *Sarcocystis* spp. (1,09%; 1/97) e *Isospora* spp. (1,09%; 1/97) em fragmentos de encéfalo de 14 aves silvestres da região Nordeste do Brasil. A concentração e qualidade do DNA amplificado obtido limitou o sequenciamento genético de todas as amostras positivas, que pode ser explicado por se tratar de amostras obtidas diretamente de tecidos animais em que a concentração e distribuição dos parasitos são heterogêneas. Dubey (2010) também relatou que a PCR foi muito eficaz para o diagnóstico, mas nem tanto para a genotipagem, devido à pequena quantidade de material genético encontrado nos tecidos.

No CETRAS, os Psitaciformes e Passeriformes foram as ordens com maior número de indivíduos analisados, pois essas aves são as mais capturadas para fins de tráfico no Brasil. *P. dominicana* é considerada a espécie mais comercializada ilegalmente em Recife, Pernambuco (PEREIRA; BRITO, 2005). Isto ocorre especialmente na região Nordeste do Brasil (NÓBREGA ALVES et al., 2012), uma vez que nesta região, além da grande biodiversidade, há problemas socioeconômicos que impelem a captura e venda ilegal de animais, além da questão cultural de caça e criação doméstica.

No Brasil, ainda são raros os estudos sobre a prevalência e distribuição de protozoários da família Sarcocystidae em animais silvestres pela detecção do gene 18S rDNA, destacando-se três pesquisas. Na primeira, foi reportada a detecção de *Toxoplasma gondii* em 17,9% (7/39) fragmentos de coração de saguis (*Callithrix jacchus*) no estado de Pernambuco (MELO et al., 2020). Na segunda, foi relatada a presença *Toxoplasma gondii* (22,7%; 10/44) e *Sarcocystis sp* (11,4%; 5/44) em aves silvestres de vida livre resgatadas no estado de Minas Gerais (RÊGO et al., 2021). Na terceira, foram detectados 4,7% (91/1921) morcegos com tecidos positivos para o gene 18S rDNA e identificados oito gêneros de protozoários da família Sarcocystidae (*Besnoitia, Cystoisospora, Hammondia, Hyaloklossia, Neospora, Nephroisospora, Sarcocystis e Toxoplasma*) em 50 amostras de 16 espécies de quirópteros das famílias Phyllostomidae, Molossidae e Vespertilionidae) no estado de São Paulo (CABRAL et al., 2021).

Silva et al. (2018) isolaram e caracterizaram genotipicamente *T. gondii* de aves silvestres de vida livre ou mantidas em cativeiro no estado de Pernambuco e descreveram um isolado não virulento de *T. gondii* em um socozinho (*Butorides striata*) de vida livre além disso identificaram o DNA de *T. gondii* em uma coruja de óculos (*Pulsatrix perspicillata*), um peneireiro (*Falco sparverius*) e uma garça estriada (*B. striata*) e alertaram para o risco da infecção em animais silvestres em extinção.

A identificação de *T. gondii* em aves mantidas nos recintos é um alerta para os centros de conservação de animais silvestres, pois sinais clínicos respiratórios severos podem ocorrer em passeriformes com toxoplasmose (MARTÍNEZ-SÁNCHEZ et al., 2020), além de comprometer as ações do centro. Fatores como estresse de captura, mudança de ambiente e alimentação, imunossupressão, recintos inadequados e presença de indivíduos oriundos de localidades distintas favorecem a disseminação de agentes infecciosos (ANDRADE et al., 2016; SILVA et al., 2018). O CETRAS recebe e abriga várias espécies de aves provenientes do tráfico de animais silvestres da Caatinga e Mata Atlântica, capturados ilegalmente e mantidos em condições desfavoráveis como maus tratos, estresse alimentar e superpopulação, tornando-as suscetíveis às doenças.

As aves de vida livre do bioma Caatinga positivas para *T. gondii* no nosso estudo têm hábitos alimentares diferentes como a gralha-cancã que é onívora e come artrópodes, insetos e frutos, pequenos roedores, pequenas cobras, peixes e outras aves menores. A siriema come desde insetos até pequenos vertebrados como roedores, répteis e anfíbios e outras espécies de aves, enquanto a rolinha come grãos diretamente no chão. A provável fonte de infecção para as aves de vida livre é o solo ou água contaminados com oocistos de *T. gondii* (LINDSAY et al., 2003) uma vez que neste bioma existem felídeos silvestres catalogados, a exemplo do gato-do-mato-pintado (*Leopardus tigrinus*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*), onça-parda (*Puma concolor*) (MARINHO et al., 2018) e onça-pintada (*Panthera onca*) (MACHADO, 2020) que funcionam como hospedeiros definitivos do parasito. As aves silvestres podem ser consideradas bioindicadores da presença de *T. gondii* e a detecção de aves soropositivas sugere que estas tenham ingerido oocistos esporulados no solo, água ou em alimentos contaminados (GONDIM et al., 2010).

A Caatinga é um bioma unicamente brasileiro que abriga 182 espécies de animais ameaçados de extinção e 46 que existem apenas nesse bioma, e isso ocorre principalmente devido à expansão de atividades agropecuárias que já devastaram mais de 50% da vegetação nativa. Dessa forma, estudar agentes infecciosos como os da família Sarcocystidae que causam impacto negativo à saúde animal, contribui com dados importantes que auxiliam na conservação das espécies ameaçadas (FIGUEIREDO, 2019).

A detecção de *Isospora* spp. nos animais do CETAS também representa um risco à saúde das aves silvestres. Sinais clínicos associados à infecção por este gênero são relatados frequentemente em aves jovens, imunossuprimidas ou submetidas a estresse (MACWHIRTER, 1994; JOSEPH, 2003), como as mantidas em cativeiro. Os Passeriformes podem desenvolver a forma assintomática ou distúrbios gastrointestinais, diarreia. Existem relatos de coccidiose em diversas espécies de Passeriformes como *Carduelis magelanicus, Carduelis yarrellii, Gnorimopsar chopi, Icterus icterus, Puccinia coronata, Paroaria dominicana, Cyanocompsa brissonii; Sporophila albogularis, Sporophila caerulescens, Sporophila lineola, Sporophila nigricollis* e *Thraupis sayaca* (GODOY, 2010; MARTINEZ-SÁNCHEZ et al., 2020).

Ainda, identificamos *Sarcocystis* spp. nas aves silvestres mantidas em cativeiro. No Brasil, esse protozoário já foi descrito em aves silvestres de vida livre (RÊGO et al., 2021), destacando-se a espécie *S. falcatula* que já foi associada à mortalidade de 38 psitacídeos no Parque das Aves em Foz do Iguaçu, Paraná com quadro de meningoencefalite e alterações pulmonares (GODOY et al., 2009). Recentemente, Adão et al. (2021) relataram mal súbito e óbito em um papagaio-do-congo (*Psittacus erithacus*) que vivia com seu tutor e tinha contato com outras aves. Na necropsia foram identificadas características macro e microscópicas que concluíram o diagnóstico de sarcosporidiose por *Sarcocystis falcatula.*

Apesar de a infecção por protozoários do gênero *Sarcocystis* geralmente ser assintomática, os estudos alertam sobre a presença deste patógeno em aves de vida livre e cativeiro como um importante indicador epidemiológico de desequilíbrio ambiental, além de destacar os riscos para as espécies das ordens Psittaciformes, Columbiformes e Passeriformes, que são os grupos de aves mais comumente relacionadas ao tráfico e aos riscos de extinção. De acordo com Dubey et al. (2015), ainda que sejam escassos os estudos com *S. falcatula* e *S. calchasi* em aves

silvestres, sabe-se que os sintomas causados por *S. falcatula* são geralmente hiperagudos com grave lesão pulmonar, enquanto *S. calchasi* e *S. neurona* podem acarretar um quadro de meningoencefalite.

Não é possível determinar o momento da infecção por protozoários da família Sarcocystidae nas aves do CETRAS, que pode ter ocorrido na natureza ou após a chegada das aves nos recintos. Também não é possível afirmar sobre as fontes de infecção, mas sabe-se que o hábito alimentar de cada espécie pode influenciar no risco de infecção. As espécies de aves positivas para protozoários da família Sarcocystidae neste estudo possuem hábitos alimentares diversos na natureza. Os animais da Família Psittacidae, representados pelo papagaio verdadeiro e maracanã pequena se alimentam de sementes e frutos e o forrageio é feito em galhos de árvores. Em ambientes restritos estes indivíduos permanecem em gaiolas ou viveiros e costumam forragear no chão, sendo esta uma possibilidade de ingestão de oocistos. Em relação aos passeriformes, a alimentação é composta por grãos, sementes, frutas e insetos (SICK, 1997). Na natureza, devido à alimentação arbustiva/arborícola, a ingestão de oocistos é minimizada, enquanto em viveiros, o forrageio é realizado em comedouros e no solo, o que eleva o risco de ingestão de oocistos. A garça branca pequena (*Egretta thula*) é um animal de ambiente aquático que vive perto de lagos e rios e se alimenta hodiernamente de peixes, de modo que a infecção está associada à poluição e ao despejo inadequado de contaminantes que carreiam oocistos (GWYNNE, 2010). Em cativeiro sua alimentação costuma ser semelhante à da vida livre, destacando-se os pescados, e nessas condições o risco de infecção se relaciona à qualidade dos alimentos.

Aves que permanecem por tempo prolongado em ambientes fechados tendem a se tornar mais suscetíveis às doenças infecciosas devido ao decréscimo da qualidade do ar inalado, do acúmulo de patógenos restritos a um ambiente e da perda da exposição aos raios solares. Estes fatores agem para diminuir a resistência natural das aves às enfermidades (SANTOS et al., 2008). Muitos destes animais morrem e os que sobrevivem podem apresentar infecções subclínicas que evoluem para sinais clínicos graves e se disseminam entre as populações animais (MARIETTO-GONÇALVES et al., 2009; ROSEN; SMITH, 2010).

Conclusão

Este é o estudo mais abrangente sobre a ocorrência de protozoários da família Sarcocystidae em aves silvestres mantidas em centro de reabilitação e em vida livre na região nordeste do Brasil. Os resultados obtidos fornecem informações epidemiológicas importantes para adoção de medidas preventivas visando a conservação das aves silvestres em cativeiro e no ambiente.

Referências

ADÃO, C. E. et al. *Sarcocystis falcatula* em papagaio-do-congo (Psittacus erithacus): relato de caso. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, *15*(3), 250-254, 2021.

ANDRADE L. H. M. et al. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild birds from three Federal Conservation Units of Paraíba and Bahia, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 36, n. 2, p. 103-107, 2016.

BESTEIRO, S. Autophagy in Parasitic Protists. In: Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging. Role in General Diseases, v. 2, p. 185-195, 2014.

CABRAL, A. D. et al. Occurrence and diversity of Sarcocystidae protozoa in muscle and brain tissues of bats from São Paulo state, Brazil. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 14: 91-96, 2021.

COELHO, C. D. et al. Tratamento da coccidiose causada por espécies do gênero Isospora Schneider,1881 em curiós Sporophila angolensis Linnaeus, 1766 e bicudos Sporophila maximiliani Cabanis, 1851 mantidos em regime de quarentena. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 34, p. 102-108, 2012.

DUBEY, J.P. A review of toxoplasmosis in wild birds. Veterinary Parasitology, 106: 121–153, 2002.

DUBEY J.P. Toxoplasmosis of animals and humans, CRC Press; 2010.

DUBEY, J. P. et al. *Sarcocystosis* of Animals and Humans. CRC Press. CRC Press, Boca Raton, Florida. 2015. https://doi.org/10.1201/b19184

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. CRC press, 2016.

FIGUEIREDO, P. Caatinga tem 182 animais ameaçados; no país, quase 10% dos monitorados estão sob risco de extinção. 20/02/2019. G1 Natureza. Acesso em 28 de março de 2022. Disponível em: Caatinga tem 182 animais ameaçados; no país, quase 10% dos monitorados estão sob risco de extinção | Desafio Natureza | G1 (globo.com).

GODOY, S N; MATUSHIMA, E R. A survey of diseases in passeriform birds obtained from illegal wildlife trade in São Paulo City, Brazil. Journal of Avian Medicine and Surgery, 24.3: 2010, 199-209.

GODOY, S. N. et al. Occurrence of *Sarcocystis* falcatula in Captive Psittacine Birds in Brazil. Journal of Avian Medicine and Surgery, v. 23, n. 1, p. 18-23, 2009.

GONDIM, L. F. P. et al. *Sarcocystis neurona* e *Sarcocystis* spp. relacionados, excretados por gambás (*Didelphis* spp.) na América do Sul. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**,** *30,* 2021.

GWYNNE, J.A.; RIDGELY, R.S.; TUDOR, G.; ARGEL, M. Aves do Brasil: Pantanal e Cerrado. Horizonte: São Paulo, 2010. 322 p.

JOSEPH, V. Infectious and parasitic diseases of captive passerines. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, v. 12, n. 1, p. 21-28, 2003.

KARAKAVUK, M. et al. Prevalence of toxoplasmosis and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains isolated in wild birds of prey and their relation with previously isolated strains from Turkey. PLoS One 2018; 13(4): e0196159. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0196159. PMid:29668747.

KUTKIENÈ, L. et al. Description of *Sarcocystis turdusi* sp. nov. from the common blackbird (*Turdus merula*). Parasitology, v.139, p. 1438-1443, 2012.

LINDSAY D. S. et al. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. Journal of Eukaryotic Microbiology 2003;50(Suppl 1): 687-688. http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00688.x. PMid:14736220.

LLANO, H. A. B. et al. Molecular screening for *Sarcocystidae* in muscles of wild birds from Brazil suggests a plethora of intermediate hosts for *Sarcocystis* falcatula. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2022.

MACHADO, L. A luta pela sobrevivência das onças da Caatinga. 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/brasil-51289166> - Acesso em 17 mar 2022.

MACWHIRTER, P. Passeriformes. In: RITCHIE, W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. Avian medicine: principles and application. Florida: Wingers, 1994. cap. 43, p. 1173-1198.

MAGALHÃES, F. J. R. et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 25: 511-515, 2016.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A. et al. Prevalência de endoparasitas em amostras fecais de aves silvestres e exóticas examinadas no laboratório de ornitopatologia e no laboratório de enfermidades parasitárias da FMVZ/UNESP/BOTUCATU, SP. Ciência Animal Brasileira, v. 10, n. 1, p. 349-354, 2009.

MARTINEZ-SÁNCHEZ, E. T., et al.. Associations between wild birds and hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *11*(6), 2020. 101534.

MARINHO, P. H. et al. Mamíferos de médio e grande porte da Caatinga do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil. Mastozoología Neotropical v. 25, n.2, p. 345-362, 2018.

MELO, R. P. B. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in heart tissue from common marmoset (*Callithrix jacchus*) monitored for yellow fever and rabies in Pernambuco state, Northeastern of Brazil. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 2020, 21: 100447.

NÓBREGA ALVES, R.R.; DE FARIAS LIMA, J.R.; ARAÚJO, H.F.P. The live bird trade in Brazil and its conservation implications: an overview. Bird Conservation International, v. 23, n. 1, p. 53-65, 2012.

OLIVEIRA, P.S. et al. Diversity and distribution of coccidia of wild birds in an Atlantic forest fragment area in southeastern Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 26, n.4, p. 457-464, 2017.

PEREIRA, G.A.; BRITO, M.T. Diversidade de aves silvestres brasileiras comercializadas nas feiras livres da região metropolitana do Recife, Pernambuco. Atualidades Ornitológicas, n. 126, p. 14-20, 2005.

PRAKAS, P.; BUTKAUSKAS, D. Protozoan parasites from genus *Sarcocystis* and their investigations in Lithuania. *Ekologija*, *58*(1), 2012.

RÊGO W. M. F. et al. *Sarcocystidae* in wild birds of southeastern Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, 30(1), 2021 e028520. https://doi.org/10.1590/S1984-296120201094

ROSEN, E. R.; SMITH, K. F. Summarizing the evidence on the international trade in illegal wildlife. EcoHealth, v. 7, p. 24-32, 2010.

SANTOS, G. G. C. et al. Doenças de aves selvagens diagnosticadas na Universidade Federal do Paraná (2003-2007). Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 28, n. 11, p. 565-570, 2008.

SATO, A. P. et al. Serosurvey of Toxoplasma gondii, Neospora caninum and *Sarcocystis* neurona in raptors and risk factor analysis. *Parasitology International*, 2021, 82: 102312.

SICK, H. Ornitologia Brasileira. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.

SILVA, J.C.R. Toxoplasmose. In: CUBAS, Z.S.; SILVA J.C.R.; CATÃO-DIAS J.L. 1 ed. Tratado de animais selvagens: medicina veterinária. São Paulo: Roca, p.768-784, 2006.

SILVA, M. A. 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, *27*, 481-487, 2018.

SU, C. et al. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. Parasitology, v. 137, p. 1-11, 2010.

WILLIAMS, S.M. et al. Ocular and Encephalic Toxoplasmosis in Canaries. Avian Diseases. v. 45, p. 262-267, 2001.

7. CAPÍTULO 3

Artigo submetido à Parasites e Vectors

Ocorrência de DNA de *Toxoplasma gondii* em mamíferos silvestres na região Nordeste do Brasil

Gabriela Hémylin Ferreira Moura[1], Hannah Tsuruzaki Kirzner de Barros e Silva[1], Cecilia Irene Perez Calabuig[2], Kauane Alves Freitas[2], Renata Pimentel Bandeira de Melo[3], Natália Costa Teixeira dos Santos[4], Luana Thamires Rapôso da Silva[4], Maria Clara Feitosa de Albuquerque[4], Érika Fernanda Torres Samico Fernandes[1] Rinaldo Aparecido Mota[1]

[1] Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, PE, Brasil.
[2] Laboratório de Conservação e Ecologia da Vida Silvestre, Departamento de Biociência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN.
[3] Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil.
[4] Centro de Triagem de Animais Silvestres de Pernambuco (CETRAS-Tangara), Recife, PE, Brasil.
*Autor correspondente: Gabriela Hémylin Ferreira Moura. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife/PE. (81) 3320-6425, E-mail:gabi.hemylin@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-6438-8572

Resumo

Objetivou-se investigar a ocorrência do DNA de protozoários da família Sarcocystidae em mamíferos silvestres de vida livre no bioma Caatinga e em animais mantidos em cativeiro no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Pernambuco (CETRAS-Tangara), Recife, Pernambuco. Foram analisados 35 animais de vida livre do Bioma Caatinga de dois municípios do estado do Rio Grande do Norte e 44 mamíferos de cativeiro alojados no CETRAS, totalizando 79 animais de diferentes famílias e ordens. Fragmentos de encéfalo e/ou coração foram submetidos ao diagnóstico molecular por *nested* PCR para o gene 18s rDNA de protozoários da família Sarcocystidae, seguido por sequenciamento genético. O DNA de *Toxoplasma gondii* foi detectado em 25,31% (20/79) dos mamíferos pertencentes a cinco ordens (Didelphimorphia, Pilosa, Carnivora, Primates e Rodentia*)* e 9 espécies (*Conepatus semistriatus, Didelphis albiventris, Tamandua tetradactyla, Bradypus variegatus, Sapajus libidinosus, Thrichomys laurentius, Monodelphis domestica, Galea spix e Callithrix jacchus)*. Os resultados demonstram a participação de algumas espécies de mamíferos silvestres no Bioma Caatinga e mantidos no CETRAS-Tangara no ciclo silvestre deste coccídio.

Palavras-chaves: Coccídios; animais silvestres; Protozoários; Caatinga

Abstract

This study aimed to investigate the occurrence of DNA of protozoa belonging to the family Sarcocystidae in free-living wild mammals in the Caatinga biome and in animals kept in captivity at CETRAS-Tangara, Recife, Pernambuco. Thirty-five free-living animals from the Caatinga Biome in two municipalities in the state of Rio Grande do Norte and 44 captive mammals housed at the Pernambuco Wild Animal Triage Center (CETRAS-Tangara) were analyzed, totaling 79 animals from different families and orders. Brain and heart tissues were subjected to molecular diagnosis using *nested* PCR for the 18S ribosomal DNA gene of Apicomplexa protozoa, followed by genetic sequencing. *Toxoplasma gondii* DNA was detected in 25.31% (20/79) of mammals belonging to five orders (*Didelphimorphia, Pilosa, Carnivora, Primates*, and *Rodentia*) and nine species (*Conepatus semistriatus, Didelphis albiventris, Tamandua tetradactyla, Bradypus variegatus, Sapajus libidinosus, Thrichomys laurentius, Monodelphis domestica, Galea spixii*, and *Callithrix jacchus*). The results demonstrate the participation of some species of wild mammals in the Caatinga biome and those kept in captivity at CETRAS-Tangara in the sylvatic cycle of this coccidia.

Keywords: Coccidia; wild mammals; Protozoa; Caatinga

Introdução

Toxoplasmose é uma das zoonoses mais estudadas no mundo, listada como doença negligenciada pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Existem poucos estudos que determinam o impacto da fauna silvestre na transmissão de *T. gondii* para os humanos, contudo os altos índices da infecção pelo protozoário em diversas espécies de aves e mamíferos silvestres indicam que estes animais podem atuar como fonte de infecção e via de transmissão para os humanos (MARVULO; CARVALHO, 2014).

Acredita-se em uma associação entre o ciclo doméstico e selvagem de *T. gondii,* visto que os hospedeiros selvagens estão se aproximando do ambiente urbano. Animais como os mamíferos são encontrados em ambientes residenciais e estes podem se infectar ao ingerir oocistos de *T. gondii* no ambiente provenientes dos felinos domésticos. A infecção também pode acontecer por meio dos gatos domésticos pelo carnivorismo e a possibilidade de ingerirem animais selvagens infectados (FORNAZARI; LANGONI, 2014). Características ambientais podem interferir na

ocorrência, transmissão e distribuição de *T. gondii* em mamíferos selvagens e domésticos (YAN et al., 2016).

Os animais silvestres são bastante acometidos pela toxoplasmose em diversos locais no mundo, em animais mantidos em cativeiro ou de vida livre, desencadeando graves impactos sobre sua conservação (SILVA et al., 2014; ONUMA et al., 2014; VANWORMER et al., 2014). Os animais infectados têm problemas na reprodução, e assim, dificulta o estabelecimento de novas populações ou o crescimento de populações preexistentes (JESUS et al., 2017; LUO et al., 2017). Alguns animais silvestres apresentam riscos mais elevados quando são infectados por *T. gondii*, e isso ocorre em algumas espécies de mamíferos aquáticos e marsupiais, desencadeando uma infecção letal (INNES, 2010).

Para contribuir com os estudos sobre a as enfermidades parasitárias, entre elas toxoplasmose, nas espécies silvestres, objetivou-se investigar a ocorrência do DNA de protozoários da família Sarcocystidae em mamíferos silvestres de vida livre no bioma Caatinga e em animais mantidos em cativeiro no Centro de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres de Pernambuco (CETRAS-Tangara), Recife, Pernambuco.

Material e Métodos

Aspectos éticos

O estudo foi autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), licença número 030/2019, e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO, licença número 64186-1.

Área de estudo e amostras biológicas

Neste estudo foram utilizados 79 mamíferos de vida livre e mantidos em cativeiro. Os animais de vida livre (n=35) foram capturados no Bioma Caatinga que corresponde a uma grande área geográfica, localizada na região Nordeste do Brasil. Os animais foram procedentes de dois municípios do estado do Rio Grande do Norte: Mossoró (n=24) e Pendências (n=11). O bioma Caatinga apresenta características edafoclimáticas, precipitações e temperaturas que definem uma vegetação tropical

com períodos longos de seca (ALBUQUERQUE et al., 2012), os quais podem chegar até 11 meses por ano (AB'SABER, 1974).

Os mamíferos alojados no CETRAS-Tangara totalizaram 44 animais. Esses animais foram procedentes de entregas voluntárias ou resgatados pela polícia ambiental por maus tratos, consumo e tráfico e neste estudo foram incluídos os animais encontrados mortos nos recintos (Tabela 1).

Tabela 1. Relação dos 79 mamíferos silvestres utilizados neste estudo, segundo a ordem taxonômica, nome comum, espécie, quantidade amostral e procedência (Rio Grande do Norte – RN; Pernambuco – PE).

Ordem	Nome comum	Espécie	Quantidade	Procedência
Rodentia	Preá	*Galea spixi*	3	RN
Didelphimorphia	Catita	*Gracilinanus agilis*	3	RN
Didelphimorphia	Cuíca de rabo curto	*Monodelphis domestica*	3	RN
Rodentia	Roedor	*Wiedomys cerradensis*	3	RN
Rodentia	Punaré de são lourenço	*Thrichomys laurentius*	6	RN
Rodentia	Rato preto	*Rattus rattus*	5	RN
Pilosa	Tamanduá mirim ou tamanduá de colete	*Tamandua tetradactyla*	2	RN
Marsupialia	Gambá de orelha branca	*Didelphis albiventris*	2	RN
Primates	Sagui de tufo branco	*Callithrix jaccus*	1	RN
Carnívora	Jaritataca	*Conepatus semistriatus*	6	RN
Carnivora	Raposa	*Dusicyon thous*	1	RN
Carnivora	Cachorro do mato	*Cerdocyon thous*	1	PE
Carnivora	Furão	*Galictus cuja*	1	PE
Chiroptera	Morcego	Pteropus livingstonii	3	PE
Didelphimorphia	Gambá-de-orelha-branca	*Didelphis albiventris*	15	PE
Pilosa	Preguiça-garganta-marrom	*Bradypus variegatus*	1	PE
Pilosa	Tamanduá-mirim	*Tamandua tetradactyla*	1	PE

Primates	Macaco-prego-amarelo	*Sapajus libidinosus*	2	PE
Primates	Sagui-de-tufo-branco	*Callithrix jacchus*	20	PE

Detecção molecular de protozoários da família Sarcocystidae

Fragmentos de encéfalo ou coração foram macerados e pesados (25 mg); em seguida foram submetidos ao processo de extração de DNA utilizando-se o *kit* comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega®). Após a extração, as amostras foram amplificadas por *nested* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para o gene 18s do DNA ribossomal (18S rDNA) de protozoários da família Sarcocystidae, primeiramente usando 2µM dos *primers* externos Tg18s48F (5'-CCATGCATGTCTAAGTATAAGC-3') e Tg18s359R (5'-GTTACCCGTCACTGCCAC-3'), seguido da amplificação com 2µM dos *primers* internos Tg18s58F (5'-CTAAGTATAAGCTTTTATACGGC-3') e Tg18s348R (5'-TGCCACGGTAGTCCAATAC-3'), de acordo com protocolo descrito por Su et al. (2010) e Melo et al. (2020). Os produtos da *nested* PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com Blue Green (LGC®) e fotodocumentados.

As bandas de gel dos produtos da *nested* PCR marcados positivamente para o gene 18S rDNA foram purificados utilizando-se o kit de purificação QIAquick Gel Extraction (Qiagen®), de acordo com o protocolo do fabricante. Os produtos foram sequenciados bidirecionalmente, usando o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems). Os oligonucleotídeos utilizados para sequenciamento foram os mesmos aplicados na segunda amplificação (Tg18s58F e Tg18s348R). A reação de sequenciamento foi realizada por separação eletroforética capilar no sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Os dados do sequenciamento foram coletados, utilizando-se o *software* Data Collection (Applied Biosystems) e, em seguida, a inspeção da qualidade foi realizada usando o Sequencing Analysis Software (Applied Biosystems). As sequências foram analisadas pelo Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA) e comparadas com o banco de dados do GenBank usando o Basic Alignment Search Tools (BLAST) no National Center for Biotechnology Information (NCBI - www.ncbi.nlm.nih.gov) para a identificação de gêneros ou espécies.

Resultados

Neste estudo, 20/79 (25,31%) amostras de coração ou encéfalo foram positivas para *Toxoplasma gondii* na *nested* PCR com confirmação por sequenciamento genético. Na tabela 2 encontram-se os resultados por ordem e espécies analisadas.

Tabela 2. Relação dos 20 mamíferos silvestres positivos para *Toxoplasma gondii*, segundo a ordem, espécie, número de animais positivos na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) por localidade.

Ordem	Espécie	Animais positivos na PCR	Procedência
Carnivora	*Conepatus semistriatus*	1	RN
Primates	*Callithrix jaccus*	1	RN
Didelphimorphia	*Didelphis albiventris*	6	RN
Rodentia	*Galea spixi*	2	RN
Didelphimorphia	*Monodelphis domestica*	1	RN
Rodentia	*Thrichomys laurentius*	1	RN
Primates	*Sapajus libidinosus*	2	PE
Pilosa	*Bradypus variegatus*	1	PE
Pilosa	*Tamandua tetradactyla*	1	PE
Didelphimorphia	*Didelphis albiventris*	4	PE

Discussão

No nosso estudo, a ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* por meio da detecção do DNA foi de 25,31% (20/79) com animais positivos de diversas ordens e espécies conforme a Tabela 2. De acordo com Dubey et al. (2021), a prevalência da infecção por *T. gondii* pode variar de acordo com o método utilizado, a localidade e o contato com hospedeiro definitivo de *T. gondii.* Quando se utiliza a PCR, tem -se como

vantagem a elevada sensibilidade da técnica. O método da PCR, *primers* e quantidade de tecido do hospedeiro usado podem afetar os resultados (Dai et al., 2019).

Verificamos a presença do DNA de *Toxoplasma gondii* em roedores (*Thrichomys laurentius; Galea spixi; Monodelphis domestica, Dasyprocta leporina*), carnívoro (*Conepatus semistriatus),* primatas não humanos (*Callithrix jacchus; Sapajus libidinosus)* e marsupial (*Didelphis albiventris*). As infecções por *Toxoplasma gondii* foram relatadas em muitos animais de sangue quente em todo o mundo, incluindo os quirópteros. Zamora-Vélez et al. (2020) relataram a primeira detecção de DNA de *T. gondii* de órgãos de morcegos na Colômbia. De três espécimes de morcego de cauda curta (*Carollia brevicauda*) da reserva natural "La Montaña del Ocaso", 1/3 (33,3%) foi positivo para a presença de DNA de *T. gondii* em tecido renal. Kumari et al. (2021) examinaram a frequência de *Giardia intestinalis*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em fezes de lontras eurasianas, leopardos e guaxinins na Coréia, usando Nested PCR seguida de sequenciamento de DNA. *T. gondii* foi detectado apenas nos leopardos, sugerindo que esses animais possam atuar como hospedeiro desse protozoário zoonótico. Em uma extensa revisão feita por Dubey et al. (2021) sobre prevalência, persistência da infecção, doença clínica, epidemiologia e diversidade genética de infecções por *T. gondii* em roedores selvagens em todo o mundo, ficou evidente que existem grandes variações na prevalência da infecção por *T. gondii* em diferentes espécies de roedores. Pouco se sabe sobre a epidemiologia natural deste coccídio em camundongos e ratos e concluíram que outros pequenos animais podem ser mais importantes que camundongos na epidemiologia natural da infecção por *T. gondii* no Brasil.

Alguns estudos foram realizados com mamíferos silvestres no Brasil. No estado do Rio Grande do Norte, região Nordeste, a presença de *Toxoplasma gondii* foi investigada em gatos de pelo curto, morcegos e pequenos mamíferos não voadores em duas reservas ecológicas. Anticorpos anti-*T. gondii* foram observados em 22 (53,7%) mamíferos selvagens não voadores, 11 (21,5%) morcegos e 28 (52,8%) gatos no Teste de Aglutinação Modificado (MAT ≥ 25). O DNA de *T. gondii* foi detectado por meio da amplificação molecular de um fragmento do gene B1 (155pb) em 92 amostras de tecidos de animais silvestres, incluindo *Didelphis albiventris*, *Monodelphis domestica*, *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Glossophaga soricina* e em 4/62 gatos examinados.

Kluyber et al. (2021) realizaram estudo com o objetivo de diagnosticar a presença de parasitas zoonóticos, incluindo *Toxoplasma gondii* em quatro espécies de tatus capturados na natureza de dois ecossistemas brasileiros diferentes, o Cerrado (savana brasileira) e o Pantanal (zona úmida). Foram amostrados 43 tatus de vida livre do Pantanal e sete tatus atropelados do Cerrado. Anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados em 13 dos 43 tatus (30,2%). Em roedores e marsupiais, a toxoplasmose também tem relevância, pois estes animais têm um papel importante na epidemiologia de *T. gondii*, porque são fontes de infecção para os felídeos domésticos e selvagens. Em São Paulo, 151 roedores e 48 marsupiais, capturados na Mata Atlântica foram analisados para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* no MAT (≥ 25), com 8,6% (13/151) dos roedores e 10,4% (5/48) dos marsupiais soropositivos. Três das oito espécies de roedores (*Akodon* spp., *Oligoryzomys nigripes* e *Rattus norvegicus)* e uma das quatro espécies de marsupiais (*Didelphis aurita)* apresentaram animais positivos (GENNARI et al., 2015).

O DNA de *Toxoplasma gondii* também foi detectado em 17,9% (7/39) das amostras de coração de saguis (*Callithrix jacchus*) de vida livre no estado de Pernambuco (MELO et al., 2020), empregando o mesmo protocolo molecular do presente estudo. Ainda em Pernambuco, amostras de sangue foram coletadas de 21 lagartos-tegu (*Salvator merianae*), 12 preás (*Kerodon rupestris*) e 154 ratos-pretos (*Rattus rattus*) analisados no MAT (cut-off 1:25) que detectou anticorpos anti-*T. gondii* em 58,3% dos preás (7/12) e 22,7% dos ratos (35/154). Amostras de tecidos de animais positivos no MAT foram coletadas para análise molecular e para bioensaio em camundongos Swiss Webster, obtendo nove isolados de *T. gondii* de 35 ratos pretos, demonstrando a importância desse roedor no ciclo silvestre do coccídio (DE LIMA et al., 2019).

Em outro estudo realizado em São Paulo, empregando a mesma metodologia de PCR, foi detectado 4,7% (91/1921) de tecidos de morcegos positivos para o gene 18S rDNA e foram identificados oito gêneros de protozoários da família Sarcocystidae (*Besnoitia, Cystoisospora, Hammondia, Hyaloklossia, Neospora, Nephroisospora, Sarcocystis e Toxoplasma*) em 50 amostras de 16 espécies de quirópteros das famílias Phyllostomidae, Molossidae e Vespertilionidae) (CABRAL et al., 2021). Ao longo da história, a vida selvagem tem sido uma importante fonte de doenças infecciosas transmissíveis ao homem. Hoje, as zoonoses com reservatório de vida

selvagem constituem um grande problema de Saúde Pública, afetando todos os continentes.

A importância das zoonoses é cada vez mais reconhecida, e a necessidade de mais atenção nesta área está sendo abordada (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND; 2004). A detecção de várias espécies de mamíferos silvestres positivos, principalmente na Caatinga, traz informações epidemiológicas importantes para esta região do país, pois trata-se de um bioma exclusivo do Brasil e com poucas informações da epidemiologia deste coccídio em mamíferos silvestres.

Conclusão

Conclui-se que as espécies de mamíferos silvestres infectados por *Toxoplasma gondii* no bioma Caatinga e animais de tráfico (CETRAS-Tangara) participam do ciclo silvestre deste coccídio e esta informação deve ser considerada nos estudos de conservação destas espécies animais.

Referências

Ab'Saber AN. The morphoclimatic semi-arid domain of Brazilian caatingas. *Geomorphology*, 1(26): 43, 1974.

DAI, F. et al. Early detection of Toxoplasma gondii infection in Mongolian gerbil by quantitative real-time PCR. *Journal of Parasitology*, 105.1: 52-57, 2019.

de Albuquerque, U. P. et al. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. SCI 2012. [Editor1] [UdW2] https://doi.org/10.1100/2012/205182

DE LIMA, D. C. V. et al. *Toxoplasma gondii* in invasive animals on the Island of Fernando de Noronha in Brazil: molecular characterization and mouse virulence studies of new genotypes. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 67: 101347, 2019.

DUBEY, J. P. et al. Epidemiologic significance of *Toxoplasma gondii* infections in turkeys, ducks, ratites and other wild birds: 2009–2020. *Parasitology*, 148.1: 1-30, 2021.

FORNAZARI, F. LANGONI, H. Main zoonoses in wild mammals. *Veterinária e Zootecnia*, 21(1): 10-24, 2014 .

GENNARI, S. M. et al. *Toxoplasma gondii* antibodies in wild rodents and marsupials from the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24: 379-382, 2015.

INESS, E. A. A Brief History and Overview of *Toxoplasma gondii*. *Zoonoses Public Health*, v. 57, p. 1-7, 2010.

JESUS, R. F. et al. Toxoplasmatinae parasits in bats from Bahia State, Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 53, n. 1, p. 144-147, 2017.

KLUYBER, D. et al. Zoonotic parasites infecting free-living armadillos from Brazil. *Transboundary and emerging diseases*, 68.3: 1639-1651, 2021.

KRUSE, H.; KIRKEMO, A.; HANDELAND, K. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerging infectious diseases*, 10.12: 2067, 2004.

KUMARI, P. et al. DNA-based detection of *Leptospira wolffii*, *Giardia intestinalis* and *Toxoplasma gondii* in environmental feces of wild animals in Korea. *Journal of Veterinary Medical Science*, 20-0596, 2021.

LUO, H. et al. Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in zoo and domestic animals in Jiangxi Province, China. *Parasite*, v. 27, n. 7, p. 1-3, 2017.

Marvulo M. F. V; Carvalho V. M. Zoonoses. In: Cubas ZS; Silva, JCR; Catão-Dias JL. Treatise on Wild Animals: Veterinary Medicine. 2nd ed. São Paulo: Roca; p. 2194–2206, 2014.

MELO, R. P. B. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in heart tissue from common marmoset (*Callithrix jacchus*) monitored for yellow fever and rabies in Pernambuco state, Northeastern of Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 21: 100447, 2020.

ONUMA, S. S. M. et al. Exposure of free-living jaguars to *Toxoplasma gondii*, Neospora caninum and Sarcocystis neuroma in the Brazilian Pantanal. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 23, n. 4, p. 547-553, 2014.

SU, C. et al. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*, v. 137, p. 1-11, 2010.

SILVA, R. C. et al. Detections of antibodies of *Toxoplasma gondii* in wild animals in Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, v. 20, p. 1-4, 2014.

VANWORMER, E.et al. Using molecular epidemiology to track *Toxoplasma gondii* from terrestrial carnivores to marine hosts: Implications for public health and conservation. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 5, p. 1-14, 2014.

ZAMORA-VÉLEZ, A, et al. First detection of *Toxoplasma gondii* DNA in a wild bat from Colombia. *Acta Parasitologica*, 65.4: 969-973, 2020.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta resultados importantes do ponto de vista epidemiológico referentes à infecção por protozoários da família Sarcocystidae em aves e mamíferos dos biomas da Mata Atlântica e Caatinga mantidos em cativeiro e de vida livre na região Nordeste do Brasil. Alguns protozoários desta família foram detectados pela primeira vez nesta região do país.

Pesquisas realizadas com animais silvestres são importantes no sentido de identificar patógenos em aves e mamíferos selvagens que a cada dia estão mais próximos de áreas urbanas, interagindo com as pessoas e animais domésticos. Estudos desta natureza devem ser encorajados, pois ainda são escassos, principalmente na região nordeste do país. Conhecer o status sanitário das diferentes espécies, principalmente aquelas ameaçadas de extinção, auxilia no planejamento de ações para a preservação de espécies.

Apesar da proibição por lei, várias espécies continuam sendo capturadas para o tráfico e consumidas em áreas rurais. Informações sobre a ocorrência de patógenos e o conhecimento dos riscos da infecção pelo consumo podem diminuir a procura dos caçadores por estes animais.