

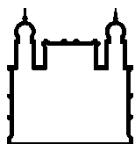
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii*
em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde
humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de
Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil

GINETTE VILLAR ECHARTE

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2019



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

GINETTE VILLAR ECHARTE

Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do título
de Doutor em ciência

Orientadora: Prof. Dra. Maria Regina Reis Amendoeira

RIO DE JANEIRO

Fevereiro de 2019

Villar, Ginette.

Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil / Ginette Villar. - Rio de Janeiro, 2019.

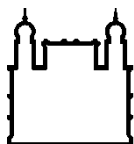
189 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2019.

Orientadora: Maria Regina Reis Amendoeira.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. *Toxoplasma gondii*. 2. animais silvestres cativos. 3. trabalhadores ocupacionalmente expostos. 4. percepção de risco. 5. competência profissional. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

GINETTE VILLAR ECHARTE

Estudo comparativo da prevalência da infecção por Toxoplasma gondii em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil

ORIENTADORA: Prof. Dr. Maria Regina Reis Amendoeira

Aprovada em: 21/ 02/ 2019

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Martha Cecilia Suárez Mutis - Presidente (IOC/Fiocruz)

Prof. Dr. Hélio Langoni (UNESP/Botucatu)

Profa. Dra. Marina Galvão Bueno (Fiocruz)

Prof. Dr. Daniel de Almeida Balthazar (UFRRJ/RJ)

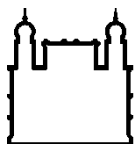
Profa. Dra. Alynne da Silva Barbosa (UFF e IOC, RJ)

Suplentes:

Profa. Dra. Celeste da Silva Freitas de Souza (IOC/Fiocruz)

Prof. Dr. Hermano Gomes Albuquerque (IOC-Fiocruz/ENSP)

Rio de Janeiro, 21 de fevereiro de 2019



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de tese de doutorado em Medicina Tropical de **Ginette Villar Echarte**, sob orientação da Dr^a. Maria Regina Reis Amendoeira. Ao vigésimo primeiro dia do mês de fevereiro de dois mil e dezenove, realizou-se às nove horas, no Auditório Maria Deane/FIOCRUZ, o exame da tese de doutorado intitulada: **“Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional o Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil”** no programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências - área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle, na linha de pesquisa: Epidemiologia e Controle de Doenças Infecciosas e Parasitárias. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis - IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr. Hélio Langoni - UNESP/SP, Dr^a. Marina Galvão Bueno - FIOCRUZ/RJ, Dr. Daniel de Almeida Balthazar - UFRRJ/RJ, Dr^a. Alynne da Silva Barbosa - UFF/RJ e como suplentes: Dr^a. Celeste da Silva Freitas de Souza - IOC/FIOCRUZ e Dr. Hermano Gomes de Albuquerque - ENSP/FIOCRUZ. Após arguir a candidata e considerando que a mesma demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela apuração da defesa da tese de doutorado. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutora em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, a Coordenadora do Programa, Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 21 de fevereiro de 2019.

Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis (Presidente da Banca e Coordenadora do Programa):

Dr. Hélio Langoni (Membro da Banca):

Dr^a. Marina Galvão Bueno (Membro da Banca):

Dr. Daniel de Almeida Balthazar (Membro da Banca):

Dr^a. Alynne da Silva Barbosa (Membro da Banca):

Av. Brasil, 4365 Manguinhos Rio de Janeiro RJ Brasil CEP: 21040-360

Contatos: (21) 2562-1201 / 2562-1299 E-mail: atendimento@ioc.fiocruz.br Site: www.fiocruz.br/iocensino

Dedico este trabalho e o que ele representa aos meus avós Fina e Enrique. Pelo apoio, pelo carinho, compreensão, por acreditarem em mim mesmo estando longe e pela paciência.

AGRADECIMENTOS

A vida é feita de momentos e são estes que ditam o que somos, contudo não nos definem de forma permanente. Neste trajeto, como em todos os anteriores, revejo-me sempre acompanhada de pessoas extraordinárias que me aconchegaram ao longo do caminho percorrido. A todas, sem exceção, deixo, neste espaço, um sentimento profundo de agradecimento.

Gostaria de agradecer ao Programa *Stricto sensu* da Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, em especial a sua coordenadora Dra. Martha Suarez Mutis.

Ao Laboratório de Toxoplasmose e outras protozooses do Instituto Oswaldo Cruz, onde realizei essa tese.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço a minha querida orientadora Dra. Maria Regina Reis Amendoeira, por todos os ensinamentos, esclarecimento de dúvidas, bibliografia facultada e ajuda na superação dos obstáculos que, ao longo desta caminhada, foram surgindo. Agradeço ainda a revisão crítica da tese, a constante disponibilidade e o incentivo na realização dos diversos trabalhos. Os objetivos propostos não teriam sido atingidos sem a sua determinação e empenho.

Ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal Fluminense, onde foram realizadas algumas das análises dessa tese.

À equipe do Laboratório de Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, SP, onde foram feitos alguns das análises dessa tese.

À equipe do Laboratório de Parasitologia do Centro para a Produção de Animais de Laboratório (CENPALAB), especialmente a Raiden Grandía, onde foram feitas algumas das análises dessa tese.

A toda a equipe do Zoológico do Rio de Janeiro, onde foi feita a pesquisa, que me fizeram sentir como parte da “família”. Especialmente ao biólogo Anderson Augusto Mendes e ao veterinário Fernando Troccoli pelo apoio nas coletas.

Aos meus colegas e amigos do Parque Zoológico Nacional de Cuba, obrigada pela ajuda e apoio desde a distância.

Ao meus amigos e colegas de laboratório Marcia Macedo, Ana Letícia Carvalho Santos, Igor Falco Arruda, Luísa de Jesus Barbosa Barroso Ribeiro, Fabielle Marques dos Santos de Araújo, Marcelo Leitão Vasconcellos, Carolina Andrade de Oliveira e Larissa Lorrayne pela ajuda, carinho e compreensão do meu “portunho”. Vou sentir muita saudade de vocês.

Agradeço também a Graça e o Carlos, secretários do Centro Latinoamericano de Física, pela ajuda e carinho.

A minha família pelo apoio e paciência. Por acreditar sempre em mim, mesmo estando longe.

E a você minha mãe, María Elena Echarte, minha melhor amiga e incentivadora. Essa tese é nossa. Eu amo a você.

A meu pai Carlos Trallero pelos conselhos, sem sua guia nunca poderia ter chegado até aqui.

Agradeço aos membros da banca examinadora por aceitarem participar desta fase importante em minha vida e sem dúvida enriquecer este trabalho.

Em especial a todos **os animais que participaram deste projeto!** que sempre fizeram parte da minha vida e certamente continuarão fazendo.

Para finalizar, a todos que de alguma forma me auxiliaram no desenvolvimento deste projeto, seja por auxílio laboratorial, científico, palavras de apoio, incentivo. A todos os que acreditam em mim e nas minhas capacidades, retribuo com dedicação e empenho. A vocês meu **MUITO OBRIGADA!!!**

“The continued existence of wildlife and wilderness is important to the quality of life of humans.”

Jim Fowler

Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

Ginette Villar Echarte

Os zoológicos modernos são instituições destinadas à manutenção da fauna silvestres, com espécies vivendo em condições diferentes do seu habitat natural, o que pode propiciar à disseminação de doenças, muitas delas zoonóticas. A prática veterinária nestas instalações expõe o profissional a risco. Considerando o exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em ungulados, primatas, carnívoros e em profissionais em risco ocupacional no Parque Zoológico Nacional de Cuba (PZN) e do Zoológico do Rio de Janeiro (RIOZOO) e os fatores de risco associados a infecção. Para tanto, foram coletadas 110 amostras de sangue (42 carnívoros, 32 primatas e 36 ungulados) no PZN e 126 (26 carnívoros, 79 primatas, 21 ungulados) no RIOZOO. Foi utilizada a técnica de ELISA/i nas amostras dos animais de ambos zoológicos, nas do RIOZOO também foi utilizado o MAT, na análise estatística dos dados foi realizada o teste de X^2 utilizando o software SPSS. As variáveis de risco para transmissão de *T. gondii* foram tipo de manejo, presença de gatos e animais carreadores mecânicos de oocistos. Também foram coletadas as fezes dos felinos silvestres e domésticos para detecção de oocistos. Para determinar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em trabalhadores foram coletadas 133 amostras de sangue (n=79 do PZN e n=54 do RIOZOO), também foram avaliadas as variáveis: percepção de risco e competência profissional por meio do questionário "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associado ao manejo territorial das zoonoses". Os resultados foram analisados pela teste de X^2 utilizando o software Epidat 3.1. Para a detecção de anti-*T. gondii* foram utilizadas as técnicas de ELISA e RIFI. A soroprevalência dos animais do PZN foi elevada (87,36%). No entanto, no RIOZOO foi de 39,09% pela técnica de ELISA/i e 33,95% na MAT. No PZN, o grupo com maior soroprevalência foi o dos ungulados (91,67%) seguida dos carnívoros (88,10%) e primatas (78,12%). No RIOZOO também foram os ungulados a ordem que apresentou uma soroprevalência mais elevada (41,67%), seguida dos primatas (36,28%), todos os carnívoros não foram soro reagentes (100%) pela técnica de ELISA/i e (96,15%) pelo MAT. Com relação aos primatas, todos do Novo Mundo, foram sororeagentes pelo MAT (43,36%) e os ungulados (21,74%). No exame coproparasitológico das fezes dos felinos não foram observados oocistos de *T. gondii*. Foram detectados larvas e ovos de nematoides similares aos da família Ancylostomatidae e ovos da família Diphyllbothriidae. Nos resultados sorológicos dos trabalhadores, somente o grupo dos técnicos existia marcadas diferenças nos percentuais entre os dois zoológicos (43,75% ELISA e 41,67% RIFI - PZN) e (75% ELISA e 79,19% RIFI - RIOZOO). Nas respostas obtidas por meio do questionário não se encontrou diferenças estatísticas ($p \geq 0.05$). As variáveis, foram pontuadas, predominantemente, como categoria "MÉDIA". Este estudo pode ser um incentivo a outros zoológicos a realizar estudos focados na prevenção da infecção por *T. gondii* em zoológicos, tendo em vista a melhoria da medicina da conservação, promoção da saúde humana e animal e conservação da vida silvestre.

Palavras-chaves: *Toxoplasma gondii*, animais silvestres cativos, trabalhadores ocupacionalmente expostos, percepção de risco e competência profissional.

Comparative study of the prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in wild animals in captivity and risk factors for human health associated with occupational risk in the National Zoo of Cuba and the Zoo of Rio de Janeiro, Brazil

ABSTRACT
PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL

Ginette Villar Echarte

The modern zoos are institutions intended for the maintenance of the wild fauna, with species living in conditions different from their natural habitat, which may provide dissemination of diseases, many of the zoonotics. The veterinary practice in these installations exposes the professional at risk. Considering the above, this study aimed to evaluate the prevalence of antibodies anti-*T. gondii* in ungulate, primates, carnivores and professionals at occupational risk in the National Zoo Park of Cuba (PZN) and Zoo of Rio de Janeiro (RIOZOO) and the risk factors associated with infection. Therefore, 110 samples of blood (42 carnivores, 32 primates and 36 ungulate) were collected in the PZN and 126 (26 carnivores, 79 primates, 21 ungulate) in RIOZOO. The technique Elisa/i was used in the samples of the animals of both zoo, in the RIOZOO was used the MAT too, in the statistical analysis of the data the X2 test was performed using the SPSS software. The risk variables for transmission of *T. gondii* were type of management, presence of cats and animals mechanical carriers of oocysts. Were also collected feces of wildlife and domestic feline. To determine the prevalence of antibodies anti-*T. gondii* in workers were collected 133 samples of blood (n = 79 of the PZN e n = 54 of RIOZOO), also the variables were assessed: perception of risk and professional competence by the questionnaire "Methodology for the analysis of some risk indicators associated with the territorial management of zoonoses ". Results were analyzed by the X2 test using the Epidat 3.1 software. For detection anti-*T. gondii* Elisa and RIFI techniques were used. The seroprevalence of PZN animals was high (87.36%). however, in RIOZOO it was 39.09% by Elisa/i technique and 33.95% in MAT. In PZN, the group with the highest seroprevalence was ungulates (91.67%) followed by carnivores (88.10%) and primates (78.12%). In RIOZOO, the ungulates were also the order that had a higher seroprevalence (41.67%), followed by primates (36.28%), all carnivores were non-reactive sera (100%) by the Elisa technique , 15%) by MAT. In relation to the primates, all of the new world, were sororeagentes by MAT (43,36%) and ungulates (21,74%). The oocysts of *T. gondii* were not observed in the coproparasitological exam of feline feces. Were detected larvae and eggs of nematodes similar to those of the family Ancylostomatoidae and eggs of the Diphyllbothriidae family. In the serological results of the workers, only the technicians group showed marked differences in the percentages between the two zoos (43.75% Elisa and 41.67% RIFI - PZN) and (75% Elisa and 79.19% RIFI - RIOZOO). In the answers obtained through the questionnaire no statistical differences were found ($p \geq 0.05$). The variables were scored predominantly as "MEDIUM" category. This study may be an incentive for other zoos to undertake studies focused on the prevention of *T. gondii* infection in zoos, with a view to improving conservation medicine, promoting human and animal health and wildlife conservation.

Key words: *Toxoplasma gondii*, captive wild animals, occupationally exposed workers, risk perception and professional competence.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Considerações gerais sobre a distribuição de zoonoses	3
1.2. <i>Toxoplasma gondii</i>	4
1.2.1. Breve histórico do parasito	4
1.2.2. Sistemática	5
1.2.3. Morfologia do protozoário	6
1.2.4. Ciclo biológico	9
1.2.4.1. Ciclo de vida no hospedeiro definitivo	10
1.2.4.2. Ciclo de vida nos hospedeiros intermediários	11
1.2.5. Mecanismos de transmissão	12
1.2.6. Patogenia	13
1.2.7. Prevalência por <i>Toxoplasma gondii</i> em animais	14
1.2.7.1. Prevalência em animais domésticos	14
1.2.7.2. Prevalência em animais silvestres	16
1.2.8. Manifestações clínicas	20
1.2.8.1. Manifestações clínicas em animais domésticos	20
1.2.8.2. Manifestações clínicas em animais silvestres	22
1.2.8.3. Infecção de <i>Toxoplasma gondii</i> em seres humanos	24
1.2.9. Diagnóstico laboratorial	28
1.2.9.1. Detecção do agente	28
a- Citologia e imunohistoquímica	28
b- Bioensaio	29
c- Exame coprológico	30
d- Reação em cadeia da polimerase	31
e- Métodos serológicos para a pesquisa de anticorpos	31
e.1. Teste de lise	32
e.2. Teste da imunofluorescência indireta	32
e.3. Ensaio imunoenzimático	32
e.4. Testes de aglutinação	33
1.2.10. Tratamento	34
1.2.11. Prevenção e controle	37
1.2.12. Vacinação	41
1.3. Justificativa	44
2. OBJETIVO GERAL	45
2.1. Objetivos Específicos	45
3. MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1. Delineamento do estudo e população estudada	46
3.2. Considerações Éticas	46
3.3. Caracterização dos locais de estudo e coleta das amostras	47
3.3.1. Parque Zoológico Nacional de Cuba	47
3.3.2. Zoológico do Rio de Janeiro	50
3.3.3. Coleta das amostras de sangue dos animais	53
3.3.3.1. Técnicas laboratoriais realizadas para as análises das amostras de sangue dos animais	55

3.3.4. Fatores de risco associados à presença de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> nos animais silvestres cativos no PZN e no RIOZOO	59
3.3.5. Coleta das amostras de fezes dos animais	61
3.3.5.1. Análises parasitológicas	62
a- Exame direto	62
b- Técnica de Ritchie (1948) modificada por Young (1979)	62
c- Técnica de Faust et al. (1938)	63
d- Técnica de Sheather (1923) modificada por Huber et al. (2003)	63
e- Técnica de Lutz (1919)	64
3.3.6. Coleta das amostras de sangue dos trabalhadores com risco ocupacional e avaliação da percepção de risco e competência profissional	64
3.3.7. Análises estatística dos resultados	68
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4.1. Sorologia dos animais silvestres cativos do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro	71
4.2. Manejo sanitário, nutricional e a presença de outros animais que circulam livremente nos zoológicos, relacionados com os fatores de risco nos animais cativos	81
4.2.1. Presença de aves nas áreas onde ficam os animais silvestres	81
4.2.2. Presença de gatos domésticos soltos nas áreas dos zoológicos	82
4.2.3. Manejo dos técnicos e tratadores no momento da limpeza dos felídeos silvestres	84
4.2.4. Qualidade do alimento oferecida aos animais	84
4.2.5. Presença de carreadores mecânicos nas áreas onde ficam os animais silvestres	85
4.3. Detecção de oocistos com morfologia similar a <i>T. gondii</i> em felinos silvestres cativos	85
4.4. Comparar a prevalência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> entre os trabalhadores com risco ocupacional do PZN e do RIOZOO e avaliar a percepção de risco, a competência profissional e os principais fatores de risco dos trabalhadores do PZN e do RIOZOO (Artigo)	91
5. Conclusão	104
6. Perspectivas futuras	106
7. Referências bibliográficas	107
8. Apêndices e Anexos	130
Apêndice 1: Termo de Consentimento Livre Esclarecido	130
Apêndice 2: Questionário aplicado aos médicos veterinários	131
Apêndice 3: Questionário aplicado aos outros profissionais	132
Apêndice 4: Questionário aplicado aos técnicos e tratadores	133
Anexo 1: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	134
Anexo 2: Carta de permissão dos diretores do Parque Zoológico Nacional de Cuba	142
Anexo 3: Carta de permissão dos diretores do Zoológico do Rio de Janeiro	143
Anexo 4: Aprovação do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMbio), Ministério do Meio Ambiente (IBAMA)	144
Anexo 5: Aprovação Comissão de Ética no Uso de Animais- CEUA/IOC	148

Anexo 6: Licença Aditiva da Comissão de Ética no Uso de Animais- CEUA/IOC	152
Anexo 7: Artigo original- Assessment professional competence and risk factors perception of Toxoplasma gondii at the Cuba National Zoo Park and Zoo Garden of Rio de Janeiro, Brazil, publicado na Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública	153
Anexo 8: Resumos dos trabalhos apresentados em congressos	166

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pórtico Monumental na saída do Zoológico RIOZOO.	2
Figura 2. Entrada principal do Parque Zoológico Nacional de Cuba.	3
Figura 3. Desenho esquemático da ultraestrutura do taquizoíta e do bradizoíta de <i>Toxoplasma gondii</i> .	8
Figura 4. Desenho esquemático da ultraestrutura do esporozoíta de <i>Toxoplasma gondii</i> .	9
Figura 5. Esquema do ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i> .	10
Figura 6. Fontes de infecção e mecanismo de transmissão por <i>T. gondii</i> .	13
Figura 7. Localização do Parque Zoológico Nacional de Cuba.	47
Figura 8. Ilustração das diferentes áreas e recintos do Parque Zoológico Nacional de Cuba onde ficam os animais.	48
Figura 9. Localização do Zoológico do Rio de Janeiro.	50
Figura 10. Ilustração das diferentes áreas e recintos do Zoológico do Rio de Janeiro onde ficam os animais.	51
Figura 11. Protocolo resumido da técnica de ELISA de inibição (ELISA/i).	56
Figura 12. Protocolo resumido do teste de aglutinação modificado (MAT).	58
Figura 13. Fatores de risco associados à presença de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> nos animais selvagens em cativeiros do PZN e do RIOZOO.	60
Figura 14. Princípio do protocolo do RIFI no IPK de Cuba e no LabTOXO IOC/Fiocruz.	66
Figura 15. Parasitos encontrados em felídeos do Parque Zoológico Nacional de Cuba: A- ovos de nematoides similar à família Ancylostomatidae em matéria fecal de Leão (<i>Panthera leo</i>); B- <i>Toxascaris leonina</i> em material fecal de Leopardo (<i>Panthera pardus</i>).	87

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Manifestações clínicas causadas por <i>T. gondii</i> .	20
Quadro 2. Fármacos sugeridos para o tratamento da infecção por <i>T. gondii</i> em macrópodos e primatas	37
Quadro 3. Distribuição da famílias e materiais utilizados segundo tipo de contenção dos animais pesquisados no PZN.	49
Quadro 4. Distribuição da famílias e materiais utilizados segundo tipo de contenção dos animais pesquisados no RIOZOO.	52
Quadro 5. Materiais utilizados segundo tipo de contenção dos animais pesquisados.	53
Quadro 6. Doses dos anestésicos utilizados na contenção dos animais silvestres pesquisados.	54
Quadro 7. Interpretação dos resultados de títulos de anti- <i>T. gondii</i> pelo método de ELISAi.	57
Tabela 1. Espécies de felídeos, quantidade de recintos e total de amostras fecais coletadas de animais cativos do Parque Zoológico Nacional de Cuba.	60
Tabela 2. Espécies de felídeos, quantidade de recintos e total de amostras fecais coletadas de animais cativos do Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil.	61
Quadro 8. Interpretação dos resultados a títulos de anti- <i>T. gondii</i> pelo método de ELISA.	65
Quadro 9. Qualificação e análise dos questionários	68
Quadro 10. Interpretação do índice Kappa	69
Quadro 11. Fórmulas para calcular o grau de concordância	70
Tabela 3. Soroprevalência anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo ordens	73
Tabela 4. Soroprevalência anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo sexo	75
Tabela 5. Soroprevalência anti – <i>T. gondii</i> em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo grupo etário	76
Tabela 6. Soroprevalência anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo tempo de permanência no zoológico	77
Tabela 7. Soroprevalência anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo se são nascidos o não no zoológico	78
Tabela 8. Prevalência de parasitos gastrointestinais em felídeos silvestres em cativeiro no Parque Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro	88
Tabela 9. Poliparasitismo em felinos silvestres em cativeiro no Parque Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, no período de janeiro a maio de 2018	89
Tabela 10. Frequência de parasitos intestinais em felídeos silvestres cativos no Parque Zoológico Nacional de Cuba e no RIOZOO segundo faixa etária e sexo	90
Tabela 11. (4.4 Tabela 1) Frequência de trabalhadores investigados do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de	96

	Janeiro segundo anos e área de trabalho	
Tabela 13.	(4.4 Tabela 2) Soroprevalência anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em trabalhadores ocupacionalmente expostos do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo no tempo de trabalho determinados por as técnicas laboratoriais utilizadas	99
Tabela 14.	(4.4 Tabela 3) Soroprevalência anti-<i>Toxoplasma gondii</i> em trabalhadores ocupacionalmente expostos do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo no tempo de trabalho determinados por as técnicas laboratoriais utilizadas	100
Tabela 15.	(4.4 Tabela 4) Soroprevalência anti-<i>Toxoplasma gondii</i> em trabalhadores ocupacionalmente expostos do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo ocupação profissional determinados por as técnicas laboratoriais utilizadas	102
Tabela 16.	(4.4 Tabela 5) Comportamento da percepção de risco e a competência profissional dos trabalhadores ocupacionalmente expostos por ocupação profissional	105

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

µm- micrómetro

kGy- quilogray

Mpa- megapascal

2-ME- 2-beta-mercaptoetanol

AIDS- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês “*Acquire Immunodeficiency Virus*”)

BID- de 12 em 12 horas (do latim “bis in die”)

CAAE- Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CEP- Comitê de Ética em Pesquisa

CEUA- Comissão de Ética no Uso de Animais

DAT- teste de aglutinação direta (do inglês “direct agglutination test”)

DNA ácido desoxirribonucleico (do inglês “deoxyribonucleic acid”)

DT- teste de lise (do inglês “dye test”)

ELISA- Ensaio imunoenzimático (do inglês “enzyme linked immunosorbent assay”)

ELISA_i- Ensaio Imunoenzimático de inibição

EUA- Estados Unidos da América

Fiocruz- Fundação Oswaldo Cruz

GO- Goiás

HD- hospedeiro definitivo

HI- hospedeiro intermediário

HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês “*Human Immunodeficiency Virus*”)

ICMBio- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

IBAMA- Ministério do Meio Ambiente

IFAT- teste da imunofluorescência indireta (do inglês “indirect fluorescent antibody test”)

IFN-γ interferon gama (do inglês “interferon gamma”)

IHAT teste de hemaglutinação indireta (do inglês “indirect hemagglutination test”)

IgG- Imunoglobulina G

IgM- Imunoglobulina M

IM- via de administração intramuscular

IOC- Instituto Oswaldo Cruz

IPK- Instituto “Pedro Kouri”

LabTOXO- Laboratório de Toxoplasmose e outras protozooses

LAT- teste de aglutinação em látex (do inglês “latex agglutination test”)

MAT teste de aglutinação modificado (do inglês “modified agglutination test”)

MT- Mato Grosso

n- Número descritivo da amostra

NK células exterminadoras naturais (do inglês “natural killer cells”)

OIE- Organização Mundial de Sanidade Animal
PA- Pará
PAS ácido periódico de Schiff (do inglês “periodic acid Schiff”)
PBS solução tampão de fosfato (do inglês “phosphate buffered solution”)
RJ- Rio de Janeiro
PCR- reação em cadeia da polimerase (do inglês “polymerase chain reaction”)
PO via de administração oral (do latim “per os”)
PPP período pré-patente
PR- Paraná
PZN- Parque Zoológico Nacional de Cuba
QID de 6 em 6 horas (do latim “quater in die”)
RIOZOO- Zoológico do Rio de Janeiro
rpm- rotações por minuto
RS- Rio Grande do Sul
SID de 24 em 24 horas (do latim “semel in die”)
SISBIO- Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SNC- Sistema Nervoso Central
SP- São Paulo
SPSS- *Statistical Package for the Social Sciences*
TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
T. gondii- *Toxoplasma gondii*
UNESP- Universidade Estadual de São Paulo

1. INTRODUÇÃO

Os zoológicos existem há centenas de anos, surgindo no Egito Antigo e na China. Um dos exemplos mais antigos data de 5500 anos a.C., no antigo Egito, aonde se tem o registro da manutenção em cativeiro de hienas, macacos, antílopes e outras espécies (Fa et al., 2011). Naquela época, possuíam apenas coleções de animais vivos em exposição para entretenimento. Este hábito era visto, e ostentado, como sinal de poder, principalmente entre imperadores chineses, astecas gregos, faraós egípcios e chefes de Estado (Garcia e Marandino, 2008). A prática durou por muitos anos, porém, em 1752 implantou-se o primeiro zoológico que permitia a visitação do público: o Zoológico de Viena, na Áustria. Mas, o foco desses ainda tinha como finalidade o entretenimento (WAZA, 2006). Este zoológico foi construído pelo imperador Francisco I em 1752 e iniciou uma nova era no conceito de zoológicos em termos de arquitetura de recintos, paisagismo e manejo de animais.

No século XVIII, o valor dos zoológicos como fonte e centro de pesquisa foi reconhecido (Carr e Cohen, 2011). No entanto, somente com a criação do zoológico de Londres em 1826, os mesmos foram reconhecidos como centros de pesquisa. O interesse sobre conservação e bem-estar de animais em zoológicos é assunto da modernidade, só desenvolvidos após a Segunda Guerra Mundial (Knowles, 2003).

Os zoológicos na atualidade mudaram não só em sua estrutura, mas também filosoficamente, respondendo às pressões ambientais e mudanças dos valores culturais (West et al., 2007). Apesar disso, eles ainda têm como um de seus principais objetivos a exposição de animais como forma de entretenimento e diversão para o público, a fim de arrecadar verba e assim desenvolver atividades para outra missão: a conservação dos animais (Patrick et al., 2007).

No Brasil, a primeira coleção de animais considerada Zoológico foi a do Museu Emílio Goeldi, em Belém do Pará, em 1882, exibindo algumas espécies representantes da Floresta Amazônica, tornando-se um dos principais centros de pesquisas do país e referência internacional, destacando-se por ser um dos únicos no Brasil, com o perfil de atender somente espécies nativas (Aragão e Kazama, 2014).

Em 06 de janeiro de 1888 ocorreu a inauguração do zoológico de Vila Isabel, primeiro zoológico do Rio de Janeiro, pelo empresário João Baptista Vianna Drummond, futuro Barão de Drummond, que permaneceu aberto até 1940 quando encerrou suas atividades. Em 1908 existia um projeto para a construção de um zoológico público na cidade do Rio de Janeiro, no entanto, apenas em 18 de março de 1945 foi inaugurado o Jardim Zoológico Municipal da Cidade do Rio de Janeiro (Augusto, 2016) (Figura 1).

Da década de 1960 em diante, vários pequenos zoológicos foram inaugurados no Brasil, tanto nas capitais como no interior dos estados, principalmente, no estado de São Paulo (Bokermann, 1986 *apud* Amaral, 2002).



Figura 1. Pórtico Monumental na saída do Zoológico RIOZOO. Fonte: Autor.

Em Cuba na província de Havana, a primeira coleção de animais foi apresentada à sociedade em 1906, por Rosalia Abreu. A coleção incluía mais de duzentos animais: primatas não humanos como gorilas, orangotangos e chimpanzés, araras, papagaios, pavões, águias, ursos, cervos e cavalos (Cubillas, 2015).

Já o primeiro zoológico foi inaugurado no dia 24 de outubro de 1939, conhecido como “Zoológico de 26”, que consiste numa instalação de tipo tradicional na qual grande parte dos animais exibidos permanece trancada. Alguns anos depois começou a construção de um novo zoológico com

características diferentes e mais modernas, onde o público poderia apreciar outras espécies em condições de aparente liberdade, espaços que atendiam às novas concepções e padrões internacionais para a manutenção em cativeiro. A inauguração do Parque Zoológico Nacional de Cuba foi no dia 24 de março de 1984. (Cubillas, 2015) (Figura 2).



Figura 2. Entrada principal do Parque Zoológico Nacional de Cuba. Fonte: Autor.

Estudos mostram que o gosto por animais silvestres mantidos em ambientes domésticos não é recente. Há muito tempo cultiva-se o hábito de possuí-lo na condição de ente de estimação, exercendo a função de companhia ao mantenedor. Tal prática evidenciou-se no Brasil, onde a diversidade e a quantidade de animais silvestres, ao longo dos séculos, ensejou um nível de exploração e aproveitamento maior do que o verificado em outros países (Nassaro, 2013). Numa pesquisa feita por Barbosa et al. (2018), no município de Belém, capital do estado do Pará, dos 20 estabelecimentos de atenção veterinária, 35% ofereciam serviços de atenção para animais silvestres e exóticos. Nessa mesma pesquisa entre os estabelecimentos visitados não houve registro da comercialização de animais silvestres, no entanto, quatro estabelecimentos vendem animais exóticos e os mais comercializados eram: hamster chinês (*Cricetulus griseus*), porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*), calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*) e tigre d'água (*Trachemys dorbigni*).

1.1. Considerações gerais sobre a distribuição de zoonoses

As mudanças das atividades humanas e ambientais atualmente estão levando à uma dinâmica de doenças infecciosas com padrões favoráveis aos patógenos, tanto em termos de distribuição geográfica e de espécies, quanto de novas

oportunidades que favoreçam sua variabilidade genética. Animais silvestres, animais domésticos e até mesmo o homem são vítimas desse padrão cada vez mais difundido (OIE, 2013a). O aumento da circulação geográfica de patógenos é devido em grande parte às ações do homem. Uma situação que tende a intensificar-se com as mudanças climáticas, a globalização, as alterações demográficas e comportamentos sociais associados são aspectos para compreender e controlar doenças infecciosas emergentes (Robinette et al., 2017).

Acredita-se que 700 milhões de pessoas visitam os zoológicos todos os anos, por isso os zoológicos são considerados áreas de conservação da biodiversidade, mas também são áreas de pesquisa para doenças emergentes pela relação que existe entre a saúde do homem e os animais (Deem, 2015). Os zoológicos e profissionais da saúde pública devem trabalhar juntos dentro de uma estrutura “One Health” e representam uma poderosa aliança para futuros problemas de conservação e saúde pública em todo o mundo.

1.2. *Toxoplasma gondii*

1.2.1. Breve histórico do parasito

Toxoplasma gondii é um dos parasitos mais estudados no mundo, devido a sua importância na medicina humana e na medicina veterinária (Amendoeira, 1995; Bonna et al., 2006; Dubey, 2008; 2010).

O protozoário *T. gondii*, agente responsável pela toxoplasmose, foi descrito pela primeira vez no Brasil, em São Paulo, por Alfonso Splendore, em julho de 1908. Este pesquisador de origem italiana e radicado no Brasil, ao trabalhar com coelhos em seu laboratório, apresentou uma descrição completa das lesões patológicas e dos corpúsculos parasitários presentes na forma livre e intracelular, isolados e agrupados, em diversos tecidos daqueles animais infectados (Splendore, 1908).

Em outubro do mesmo ano, de forma independente, os parasitologistas franceses Charles Nicolle e Louis Herbert Manceaux, na Tunísia, ao observarem o protozoário em um roedor africano silvestre, o *Ctenodactylus gondii*, consideraram-no como sendo do gênero *Leishmania*. Contudo, com novos estudos de sua morfologia, ao observarem a ausência do cinetoplasto, levaram Nicolle e Manceaux a classificá-lo como um novo gênero *Toxoplasma*. O informe, então, sobre o protozoário ocorreu em 08 de fevereiro de 1909 (Nicolle e

Manceaux, 1909; Splendore 1908). A partir desta data, as espécies eram descritas de acordo com os diferentes hospedeiros naturalmente infectados. Desta forma, existe uma longa lista de espécies de hospedeiros.

Em 1939, Sabin concluiu que todas as espécies, até então encontradas, não eram nem hospedeiros específicos, nem imunologicamente diferentes e que deveriam permanecer na espécie *Toxoplasma gondii*, segundo a Lei de Prioridade. O nome de *Toxoplasma gondii* é determinado pela sua morfologia de duas palavras do grego toxon = arco e plasma = forma (Amendoeira et al., 1999).

Em 1940, Pinkerton e Weinman relataram o primeiro caso *T. gondii* em humanos. O protozoário foi isolado em 1937 em amostras de tecido obtidas *post-mortem* de um adulto em um hospital de Lima, Perú.

O ciclo de vida de *T. gondii* só foi completamente conhecido no final da década de 1960 e início de 1970 (Frenkel et al., 1970; Dubey e Frenkel, 1972), após a descoberta do papel central do gato como hospedeiro definitivo (HD), abrigando a fase sexuada do parasito com a posterior eliminação de oocistos em suas fezes no ambiente (Dubey et al., 1970a; b). A descoberta da forma ambientalmente resistente do parasito, o oocisto, tornou possível explicar a sua prevalência mundial (Dubey, 2009a). No período compreendido entre 1975 a 1976, os felinos silvestres foram implicados como responsáveis pela perpetuação do protozoário na natureza (Dubey e Beattie, 1988).

A importância da infecção por *T. gondii* em seres humanos permaneceu desconhecida até terem sido relatados os primeiros casos de toxoplasmose congênita (Schwartzman et al. 1948). Já Boyer e Nadipura (2018) descreveram que o primeiro caso de toxoplasmose em humanos foi reportado por Jakun no ano 1923, descrevendo a presença do parasito na retina de uma criança.

1.2.2. Sistemática

Levine et al. (1980) classificaram *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909), filo Apicomplexa (Levine, 1970), classe Sporozoea (Leuckart ,1879), subclasse Coccidia (Leuckart ,1879), ordem Eucoccidiida (Leger e Duboscq, 1910), subordem Eimeriina (Leger, 1911), gênero *Toxoplasma* (Nicolle e Manceaux, 1909)

Recentemente Adl et al. (2012) propõem a seguinte classificação sistemática do protozoário:

Super grupo: SAR (Adl et al., 2012);

- Alveolata (Cavalier-Smith, 1991);
- Apicomplexa (Levine, 1980);
- Conoidasida (Levine, 1988);
- Coccidia (Leuckart, 1879);
- Eucoccidiorida (Leuckart, 1879);
- Eimeriorina (Leger, 1911);
- Sarcocystidae (Poche, 1913);
- Toxoplasma (Nicolle e Manceaux, 1909);
- *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909)

1.2.3. Morfologia do protozoário

Toxoplasma gondii possui três estágios infectantes para os hospedeiros; são eles: taquizoítos, bradizoítos, no interior de cistos que são encontrados nos tecidos dos hospedeiros, e os esporozoítos, no interior de oocistos esporulados (Dubey, 1998; 2004).

O termo “taquizoíto” (do grego *tachys* = “rápido”), proposto por Frenkel (1973), refere-se ao estágio de multiplicação rápida do parasito que Nicolle e Manceaux (1909) encontraram no roedor *Ctenodactylus gundii*. Esta forma evolutiva possui 2 a 6 µm de tamanho e uma forma de meia-lua (Dubey et al., 1998a).

Os oocistos não esporulados são subesféricos a esféricos, medindo 10 por 12 µm de diâmetro. Já os oocistos esporulados são subesféricos a elipsoidais e medem 11 por 13 µm de diâmetro. Cada oocisto esporulado contém dois esporocistos, cada um deles com quatro esporozoítos. Os esporozoítos apresentam 2 µm x 6 a 8 µm de tamanho (Dubey et al., 1998a; Amendoeira et al., 1999).

O termo “bradizoíto” (do grego *brady* = “lento”) foi proposto por Frenkel (1973) para descrever o estágio de multiplicação lenta do parasito que se encista nos tecidos. Estudos realizados por Dubey e Frenkel (1976) demonstraram que os bradizoítos no interior de cistos teciduais são parte integrante do ciclo de vida de *T. gondii* e independente da imunidade do hospedeiro.

Os bradizoítos apresentam forma de meia-lua, medindo 7 µm x 1,5 µm, e são funcionalmente diferentes dos taquizoítos. Embora morfológicamente semelhantes aos taquizoítos, diferem, por exemplo, na localização do núcleo, o qual está situado numa posição mais próxima da extremidade posterior, quando comparado com o núcleo mais central dos taquizoítos (Figura 3). Os bradizoítos são também mais resistentes às influências ambientais adversas e menos suscetíveis à destruição por enzimas proteolíticas do que os taquizoítos (Dubey et al., 1998a). Os bradizoítos são encontrados no interior de cistos teciduais (Amendoeira et al., 1999; Robert-Gangneux e Dardé, 2012). Os bradizoítos, assim como os taquizoítos, apresentam formato arqueado e reproduzem-se assexuadamente, porém de forma lenta, no interior de cistos, caracterizando assim, a fase crônica da infecção nos hospedeiros intermediários.

Os cistos teciduais possuem uma parede elástica e fina (<0,5 µm), variam entre cinco a mais de 70 µm de tamanho e formato (dependendo da localização) e podem conter centenas de bradizoítos (Dubey et al., 1998a; Dubey, 2010). Os cistos podem se desenvolver em qualquer órgão visceral, incluindo pulmões, fígado e rins. No entanto, estes são mais frequentes nos tecidos musculares como músculo esquelético e cardíaco, sendo assim uma parte essencial no ciclo de vida do parasito (Montoya e Liesenfeld, 2004; Dubey, 2010).

Já os esporozoítos encontram-se no interior de oocistos esporulados no ambiente. Estes oocistos são estruturas arredondadas e eliminadas nas fezes dos felinos infectados, ainda não esporulados, ou seja, não infectantes. No ambiente, devido principalmente a oxigenação, adquirem o caráter infeccioso mediante a esporulação, com a formação das estruturas infectantes, os esporozoítos (Amendoeira et al., 1999; Dubey, 2009a).

Estas três formas evolutivas apresentam um conjunto de organelas, típicas do Filo Apicomplexa, que o auxiliam no processo de invasão celular em células nucleadas de mamíferos e aves (Dubey et al., 1998a; Morrissette e Sibley, 2002; Souza et al., 2010). Esta função é exercida pelo complexo apical, um conjunto de organelas composto (Figuras 3 e 4). Os anéis polares situam-se logo abaixo da membrana plasmática na porção anterior da célula parasitária, embora sua composição ainda seja desconhecida (Souza et al., 2010). O conóide apresenta um formato cônico e acredita-se que desempenhe uma função mecânica durante a invasão celular (Morrissette e Sibley, 2002). Os micronemas e as rôptrias são

organelas secretoras envolvidas na adesão e invasão celular e na formação do vacúolo parasitóforo (Morrissette e Sibley, 2002). O conteúdo dos micronemas é secretado no momento inicial do processo de invasão, seguido pela secreção das rôptrias (Souza et al., 2010). Já os grânulos densos, organelas esféricas, secretam suas substâncias na fase intracelular do parasito (Souza et al., 2010).

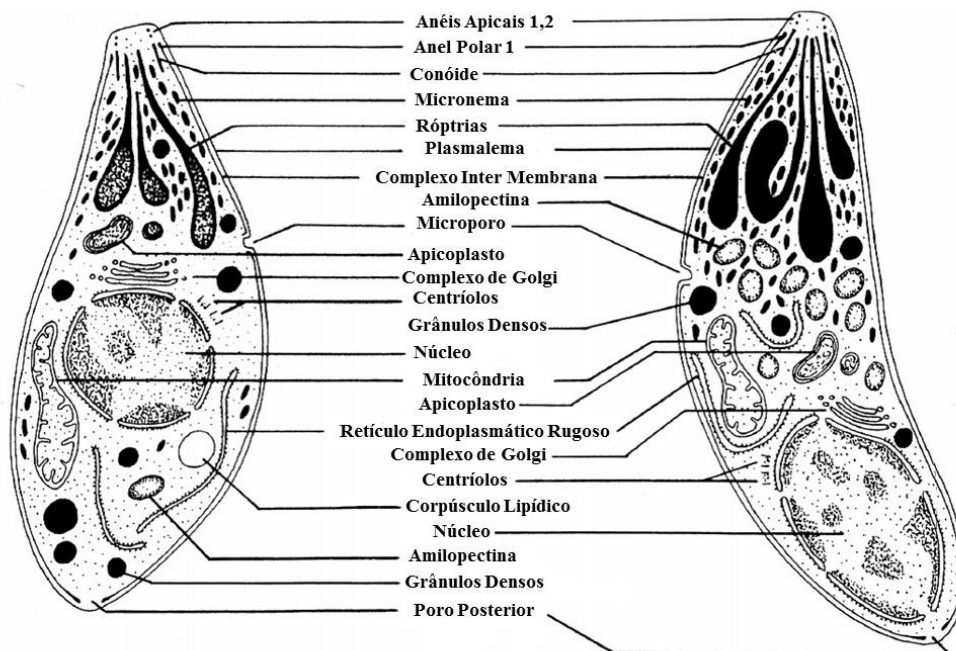


Figura 3. Desenho esquemático da ultraestrutura do taquizoíta (à esquerda) e do bradizoíta (à direita) de *Toxoplasma gondii* (Adaptado – Fonte: Dubey et al., 1998a).

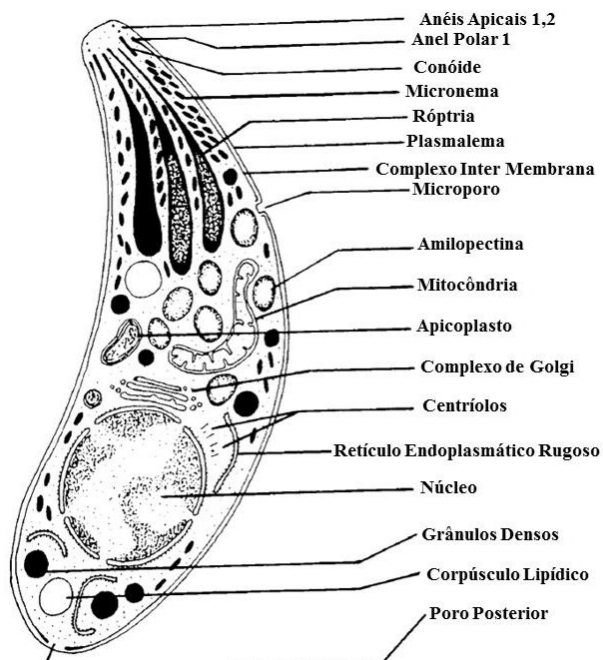


Figura 4. Desenho esquemático da ultraestrutura do esporozoítio de *Toxoplasma gondii*. (Adaptado – Fonte: Dubey et al., 1998a)

1.2.4. Ciclo biológico

Toxoplasma gondii é considerado um parasito heteroxeno facultativo, sendo que os felídeos domésticos e silvestres são considerados os únicos HD e os animais homeotérmicos, incluindo o ser humano, como hospedeiros intermediários (HI) (Dubey et al. 998a). Apresenta uma fase assexuada no HI, com pouca especificidade celular e ou espécies de hospedeiros intermediários, e uma fase sexuada nos enterócitos dos HD, levando à produção de oocistos não esporulados (Smith e Frenkel, 1995; Dubey e Beattie, 1988) (Figura 5).

Segundo Dubey (2004), a reprodução sexuada ocorre tanto nos gatos domésticos como nos felinos silvestres. Nestes animais, *T. gondii* persiste nos tecidos intestinais e extraintestinais por vários meses, possivelmente por toda a vida desses animais.

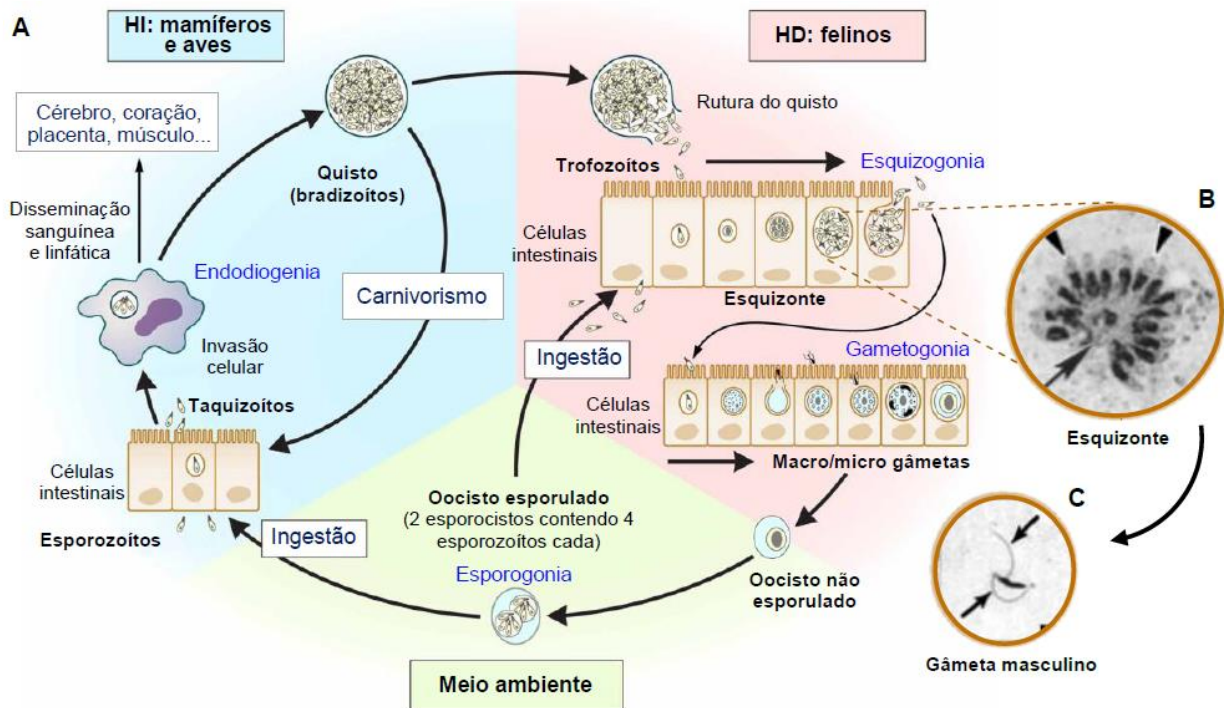


Figura 5. (A) Esquema do ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. (B) Esquizonte (seta) com vários merozoítos (pontas de seta) presentes no intestino do gato infectado. (C) Gameta masculino com dois flagelos (setas) presentes no intestino de um gato infectado. (Adaptado de Hill e Dubey, 2002 e Robert-Gangneux e Dardé, 2012).

1.2.4.1. Ciclo de vida no hospedeiro definitivo

A infecção nos hospedeiros definitivos ocorre quando há ingestão de cistos com bradizoítos presentes nos tecidos de hospedeiros intermediários. As paredes desses cistos são digeridas por enzimas proteolíticas do estômago e do intestino, determinando a liberação dos bradizoítos. Estes penetram na lâmina própria do intestino, dando origem a uma fase assexuada (esquizogonia), formando-se cinco tipos de esquizontes no epitélio intestinal, morfologicamente distintos e designados de tipos A, B, C, D e E (Dubey e Frenkel, 1972; Dubey, 1998). Em seguida, ocorre a fase sexuada (gametogonia), na qual há a formação e maturação de micro e macrogametas (Dubey, 1998). Os esquizontes do tipo A, B e C são encontrados durante a infecção primária, antes que ocorra a eliminação de oocistos. Não está determinada qual a origem dos gametas, mas os merozoítos liberados dos esquizontes do tipo D e E são provavelmente os que iniciam a formação dos gametócitos, os quais são encontrados ao longo de todo o intestino delgado dos felinos, com mais frequência no íleo, acima do núcleo do enterócito e próximos ao bordo das vilosidades (Dubey et al., 1998a). Durante a gametogonia o núcleo do microgametócito divide-se dando origem a

microgametas que são liberados e por meio de flagelos deslizam em direção ao macrogameta maduro, penetrando e fertilizando-o (Buxton, 1998). Após a fertilização, desenvolve-se uma parede em volta do zigoto, formando-se o oocisto. Posteriormente, os enterócitos infectados são rompidos e os oocistos são liberados para o lúmen intestinal e excretados juntos com as fezes dos felinos (Dubey, 2010).

1.2.4.2. Ciclo de vida nos hospedeiros intermediários

Nos hospedeiros intermediários, o parasito passa por desenvolvimento apenas assexuado. Após a ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados, ou de carne crua ou mal cozida contendo cistos, os esporozoítos são liberados dos oocistos e os bradizoítos dos cistos. Ambos invadem o epitélio intestinal e diferenciam-se em taquizoítos (Robert-Gangneux e Dardé, 2012). Os taquizoítos entram nas células hospedeiras por penetração ativa da membrana celular e multiplicam-se assexuadamente por repetidas divisões binárias, chamada de endodiogenia. Nesse processo, as células hospedeiras são rompidas e os taquizoítos invadem as células vizinhas, iniciando-se assim um novo ciclo assexuado. Os taquizoítos se disseminam por todo o organismo do hospedeiro por meio da corrente sanguínea e linfática, infectando todos os tecidos, principalmente o tecido ocular, os gânglios linfáticos, o músculo-esquelético e cardíaco, as vísceras como fígado, baço e rins, a placenta e o sistema nervoso central. A resposta imunológica protetora que se segue é acompanhada pela conversão de taquizoítos em bradizoítos que se formam no interior de cistos teciduais intracelulares, que crescem e permanecem no interior das células (Buxton, 1998; Dubey, 2004; Montoya e Liesenfeld 2004; Dubey, 2010).

Em casos raros pode ocorrer a multiplicação de taquizoítos e a invasão de outras células nervosas determinando a morte do hospedeiro. No entanto, frequentemente o hospedeiro desenvolve uma resposta imunológica eficiente contra o protozoário, que resulta na formação de cistos teciduais (Buxton, 1998). Na infecção crônica, os bradizoítos permanecem encistados e viáveis em órgãos durante toda a vida do hospedeiro, representando a fase latente, sendo infectantes para outros hospedeiros (Dubey et al., 1998a; Tenter et al., 2000).

O ciclo evolutivo do *T.gondii* nos animais domésticos e silvestres é crucial para a permanência deste protozoário e para a infecção humana (Schlüter et al., 2014).

1.2.5. Mecanismos de transmissão

Este protozoário pode ser transmitido não só entre o HI e o HD, mas também entre os HI por meio do carnivorismo ou mesmo entre os HD por meio da ingestão de oocistos (Tenter et al., 2000). A transmissão do parasito pode ocorrer por via horizontal ou vertical (Figura 6). A transmissão por via horizontal ocorre mediante a ingestão de qualquer um dos três estágios infectantes: esporozoítos no interior de oocistos, em consequência da contaminação fecal dos alimentos, do solo ou da água; bradizoítos no interior de cistos teciduais, em consequência do carnivorismo ou por meio de taquizoítos que são adquiridos em órgãos transplantados ou por transfusões sanguíneas (Tenter et al., 2000; Hill et al., 2005; Dubey, 2010). A transmissão por via vertical ocorre pela transmissão transplacentária ou transmamária (Montoya e Liesenfeld, 2004). Adicionalmente, a infecção pode ser transmitida quando os HD ingerem cistos teciduais (carnivorismo) e os HI ingerem oocistos (transmissão fecal-oral) (Dubey, 2001; 2006).

A transmissão congênita tem grande relevância na medicina humana e na medicina veterinária; a transmissão congênita faz da toxoplasmose um grande risco para fetos humanos e os de outras espécies de animais (Goulart et al., 2013). A transmissão congênita ocorre quando a fêmea ou mulheres gestantes se infectam pela primeira vez, justamente no período gestacional (Robert-Gangneux e Dardé, 2012). Nesse quadro, taquizoítos circulantes, característicos da fase aguda, atravessam a placenta e as demais membranas fetais, atingindo a circulação materno-fetal. Sendo assim, são necessárias medidas que impeçam que mulheres grávidas venham a ingerir alimentos possivelmente contaminados, com cistos teciduais e oocistos (Amendoeira e Camillo-Coura, 2010).

Invertebrados como moscas, baratas, besouros e minhocas são possíveis vetores mecânicos de oocistos, bem como o vento e os próprios seres humanos (Dubey e Beattie, 1988; Kniel et al., 2002; Sroka et al., 2003). Os pequenos roedores e as aves são importantes reservatórios para a infecção, pois podem

ser predados por felinos, que ingerem cistos com bradizoítos presentes em seus tecidos (Weiss e Kim, 2011).



Figura 6. Fontes de infecção e mecanismo de transmissão de *T. gondii* (Adaptado—
Fonte: Robert-Gangneux e Dardé, 2012).

1.2.6. Patogenia

A patogenia de *T. gondii* é determinada por vários fatores, incluindo a suscetibilidade das espécies hospedeiras, a virulência da cepa do parasito, estágio e/ou estrutura infectante do parasito na infecção. As infecções produzidas por oocistos são clinicamente mais graves em HI e não dependem da quantidade de oocistos ingeridos (Dubey, 2004).

Toxoplasma gondii possui a capacidade de invadir e multiplicar-se numa grande variedade de células hospedeiras, incluindo eritrócitos e leucócitos (Epiphanyo et al., 2003; Weiss e Kim, 2011). A invasão é um processo ativo que depende da motilidade do parasito e da secreção sequencial de proteínas produzidas por organelas como micronemas, roptrias e grânulos densos (Carruthers e Boothroyd, 2007). Os mecanismos de invasão e sobrevivência

celular incluem a permanência num vacúolo parasitóforo, escapando, deste modo, às respostas imunológicas do hospedeiro (Dubey, 2004; 2009b).

O protozoário induz também apoptose de células CD4+ na fase aguda (Khan et al., 1996), contribuindo, em parte, para o imunocomprometimento observado durante esta fase da infecção. No entanto, a infecção de uma célula pelo *T. gondii* inibe as suas capacidades apoptóticas (Goebel et al., 2001).

Desta forma, os taquizoítos rapidamente se disseminam por meio do sistema sanguíneo e linfático para vários tecidos, levando à ruptura das células hospedeiras pelas repetidas multiplicações intracelulares. O crescimento intracelular dos taquizoítos causa uma destruição tecidual que origina áreas focais de necrose celular em muitos órgãos, seguida de uma forte resposta inflamatória predominantemente mononuclear (Frenkel, 1990; Dubey, 2010). Esta resposta é responsável pelas manifestações clínicas da doença (Montoya e Liesenfeld, 2004). Por outro lado, em caso de imunocomprometimento, a conversão bradizoíto-taquizoíto resulta na reativação da infecção causando uma intensa resposta inflamatória, destruição e necrose tecidual (Weiss e Kim, 2011).

1.2.7. Prevalência por *Toxoplasma gondii* em animais

1.2.7.1 Prevalência em animais domésticos

A prevalência da infecção por *T. gondii* em gatos domésticos (*Felis catus*) pode estar diretamente relacionada a prevalência da infecção nas populações de roedores e aves locais, que servem como fonte de alimento para os felinos, principalmente para os gatos errantes ou aqueles que ainda domiciliados têm acesso a rua (Ruiz e Frenkel, 1980). Estima-se que a prevalência de infecção nesses animais, em todo o mundo, varie entre 30 a 40% (Elmore et al., 2010), com valores a atingirem 84,7% na Espanha (Millán et al., 2009). Num estudo efetuado no nordeste de Portugal verificou-se um valor de soroprevalência de 37% (76/207) (Lopes et al., 2008). Em Lisboa, foi reportado um valor de soro prevalência de 20,5% em 215 gatos amostrados (Esteves et al., 2014). Outros estudos mostram as diferentes prevalências no mundo. No Qatar (Boughattas et al., 2017), dos 495 gatos ferais amostrados, 406 (82%) foram soropositivos. No Iraque 30,4% em gatos de rua, segundo Switzer (2013). Na Etiópia, 85,4%, segundo pesquisa de Tiao (2013). Na China um estudo realizado em diferentes regiões do país mostra que a soroprevalência varia de 26,3% até 11,2% (Pan et

al., 2017). No Brasil, estudo feito por Cavalcante et al. (2006) foram observados 1% de soropositivos dos gatos examinados. Já em Pernambuco 66,6% (Costa et al., 2012), em São Paulo 35,4% (Pena et al., 2006), no Rio de Janeiro Mendes-de-Almeida et al. (2007) observaram a maior taxa de prevalência deste protozoário no ano 2002 (92,1%). Ainda no Rio de Janeiro, foram observadas taxas similares entre os anos 2003 (63,8%) e 2004 (60,6%), em gatos errantes na Quinta da Boa Vista. Figueiredo et al. (2018) por meio de análise sorológica de *T. gondii* em duas populações de gatos do Rio de Janeiro, evidenciaram positividade para anticorpos anti-*T. gondii* de 24,5% e em gatos cativos de abrigo municipal e de 18% em gatos de rua capturados em um conjunto de condomínios da cidade. Em Cuba, segundo Grandía et al. (2013a), a soroprevalência de gatos domiciliados foi de 70% em Havana.

A infecção por *T. gondii* tem sido relatada também em cães domésticos (*Canis lupus*) em quase todo o mundo (Tenter et al., 2000), sendo apontada uma grande exposição ao coccídio no nordeste de Portugal, com uma prevalência de 38% em 673 animais (Lopes et al., 2011b). No Brasil, em Cuibá-MT, Sorte et al. (2015) observaram 48,7% de cães que apresentaram anticorpos anti-*T. gondii* na RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta) e em sete municípios do Rio de Janeiro, Cunha et al. (2016) observaram que 46,08% dos cães eram sororreagentes.

Entre os animais de interesse pecuário, os pequenos ruminantes são os mais suscetíveis à infecção por *T. gondii*. Os cistos teciduais são mais frequentemente isolados em tecidos infectados de suínos, ovinos e caprinos do que em aves e equinos (Tenter et al., 2000). Os bovinos são considerados relativamente resistentes à infecção por *T. gondii*, já que os cistos presentes na musculatura desses animais são menos frequentes (Tenter et al., 2000). Estudos indicam uma prevalência elevada a nível mundial em ovinos e caprinos (até 92% e 81,6%, respectivamente) que são criados em sistema extensivo (Tenter et al., 2000). Encontram-se descritos valores de soroprevalência de 65% na região mediterrânica (el-Moukdad, 2001; Rinaldi e Scala, 2008; Panadero et al., 2010), na Grécia (Ntafis et al., 2007; Tzanidakis et al., 2012). Na China a prevalência em ovelhas variou de 1,2% até 39,1%, segundo Pan et al., 2017. Globalmente, a prevalência de infecção em suínos varia bastante, sendo menor quando os animais são criados em sistema intensivo. Neste tipo de sistema foi evidenciado uma soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 10% em suínos de engorda

(Tenter et al., 2000; Dubey, 2010). Em Lisboa, foi reportado um valor de soroprevalência de 7,1% em 281 suínos (*Sus scrofa*) (Esteves et al., 2014). No Brasil, houve variação da frequência da infecção por *T. gondii*, em bovinos que variou de 1,03% a 60% (Luciano et al., 2011a; Fajardo et al., 2013), em suínos 12,6% a 26,9% (Santos et al., 2015; Luciano et al., 2011a; Valença et al., 2011), em ovinos de 7,7% e 54,6% (Luciano et al., 2011b), e em caprinos 5,9% e 46% (Luciano et al., 2011b), o que confirma a importância epidemiológica deste parasito. Uma pesquisa feita por Andrade et al. (2013) mostrou que no Rio Grande do Norte a prevalência em ovinos foi 22,1%.

Segundo Torres et al. (2015), a infecção por *T. gondii* em aves constitui uma das fontes de zoonoses parasitárias. As aves domésticas são relativamente suscetíveis à infecção (Dubey, 2010) especialmente os frangos (*Gallus domesticus*) mais velhos (Dubey, 2009b), principalmente aqueles que são criados em sistema extensivo (Dubey e Jones, 2008; Dubey, 2010), estando descrita uma prevalência de infecção por *T. gondii* entre menos de 1% e 50% em muitas partes do mundo (Tenter et al., 2000). No Brasil, em Fernando de Noronha, Magalhães et al. (2016), detectaram 88,4% de soroprevalência para o parasito em galinhas; no Rio de Janeiro, Millar et al. (2012) observaram soropositividade em 33,1% em galinhas poedeiras e 12,2% em frangos de corte na Baixada Litorânea do RJ. Casartelli-Alves et al. (2012) evidenciaram 27,6% em galinhas criadas extensivamente em Rio Bonito, e Ferreira et al. (2014) observaram 12,3% em galinhas d'angola em área rural do Rio de Janeiro.

1.2.7.2. Prevalência em animais silvestres

Apesar das evidências sorológicas de infecção por *T. gondii* em animais silvestres, ainda não está descrito a função desses animais na cadeia epidemiológica e pouco se sabe da suscetibilidade das várias espécies ao parasito (Cañon-Franco et al., 2013). Infecção por *T. gondii* já foi relatada em animais silvestres sob cuidados humanos. Demonstrando a possibilidade de transmissão desse parasito para esses animais em ambientes de Zoológico (Zhang et al., 2000; Mucker et al., 2006; Ullmann et al., 2010).

A exposição a esse agente infectante pode ser constante quando os animais silvestres estão em vida livre, se tornando uma ameaça a conservação de diferentes espécies de animais. As manifestações clínicas da toxoplasmose já

foram relatadas em marsupiais australianos, golfinhos, primatas não humanos do Novo Mundo e várias espécies de aves (Johnson et al., 1989; Dietz et al., 1997; Dubey, 2002).

A existência de animais herbívoros infectados é um indicador de contaminação ambiental por oocistos. Por outro lado, onívoros e carnívoros infectados sugerem uma contaminação cumulativa ambiental com oocistos e/ou ingestão de tecido muscular de hospedeiros intermediários infectados (Smith e Frenkel, 1995; Dubey e Jones, 2008). A presença de felinos silvestres, em algumas regiões, já foi considerada como fator de risco associado à transmissão de infecção do parasito (Cañon-Franco et al. 2013), como nos relatos de contaminação de reservatórios de água municipal por oocistos eliminados por felídeos silvestres (Jones e Dubey, 2010). Por conseguinte, as superfícies de descarga que contém fezes de felinos contaminadas com oocistos de *T. gondii* entram em ecossistemas aquáticos e os animais que neles habitam são infectados, como é o caso das lontras-marinhas (*Enhydra lutris*), que podem apresentar elevados valores de prevalência como consequência dos seus hábitos alimentares baseados na ingestão de bivalves, animais filtradores que concentram oocistos de *T. gondii* (Kapperud et al., 1996).

Os pequenos roedores também desempenham um papel relevante como indicadores de contaminação ambiental, pois como são hospedeiros intermediários, podem transmitir a infecção aos carnívoros, incluindo os felídeos silvestres e onívoros (Reperant et al., 2009; Turčeková et al., 2014; Duscher et al., 2015).

Lopes et al. (2011c) reportaram um valor de soroprevalência de infecção por *T. gondii* de 50% (26/52) em aves e de 90% em mamíferos silvestres (18/20) do norte e centro de Portugal. Os resultados obtidos são indicativos de uma elevada contaminação do meio silvestre por *T. gondii* naquele país.

Muitas espécies de aves silvestres são hospedeiras para *T. gondii*, incluindo psitacídeos, passeriformes e aves de rapina (Patton, 1993; Dorrestein, 1985; Dubey, 2010).

Outros estudos realizados em aves de jardins zoológicos e centros de reabilitação reportaram valores de soroprevalência de 18,6% (228/1225) em Berlim (Ippen et al., 1980), 35,4% (19/53) na França, 2,7% (2/75), na Coreia do Sul (Choi et al., 1987), 11,1% (4/36) na China (Zhang et al., 2000) e de 6,7%

(12/179) no Japão (Murata, 1989). Um estudo feito em animais de vida livre da Mata Atlântica do estado de São Paulo, Brasil detectou uma soropositividade de 48,7% (39/80) em aves onívoras e 27,8% (34/122) em insetívoras (Gennari et al. 2014).

Thois et al. (2003) analisando a infecção por *T. gondii* na floresta Amazônica da Guiana Francesa, evidenciaram que mamíferos terrestres estavam significativamente mais expostos as formas infectantes do protozoário do que os arborícolas.

No que diz respeito a felídeos silvestres, são escassos os estudos que comprovam o seu envolvimento na epidemiologia da infecção (Cañon-Franco et al., 2013). Não obstante, a soropositividade para *T. gondii* estimada nesse grupo de animais é muito elevada em todo o mundo, aproximando-se de 100% (Elmore et al., 2010), tendo sido relatado um valor elevado de soroprevalência de infecção em lince (*Lynx*) (88,5%) (Riley et al., 2004).

A soroprevalência é mais elevada em felinos silvestres de cativeiro do que em felinos em vida livre (Dubey, 2010). Estudos sobre a infecção por *T. gondii* no ameaçado lince-ibérico (*Lynx pardinus*) foi realizado na Espanha. Sobrino et al. (2007) detectaram anticorpos para *T. gondii* em 22 de 27 animais (81,3%). García-Bocanegra et al. (2010) analisaram mais da metade da população de lince-ibérico de modo a estimar valores de soroprevalência nas populações que vivem em vida livre e em cativeiro. De um total de 129 animais, 62,8% apresentaram anticorpos para *T. gondii*; frequência similar foi observada tanto na população em vida livre quanto na de cativeiro, que era oriunda de vida livre. No entanto, na população nascida em cativeiro a soroprevalência era significativamente mais baixa.

Estudos com felinos silvestres ressaltam que há eliminação de oocistos nas fezes de suçuarana (*Puma concolor*), lince-canadensis (*Lynx canadensis*) e lince-pardos (*Lynx rufus*) (Aramini et al., 1998; Labelle et al., 2001). A presença de felinos em cativeiro é uma fonte de infecção para outras espécies (Lukešová e Literák, 1998). Assim, a prevalência de *T. gondii* nos HI depende da presença de felinos no ambiente (Elmore et al., 2010), já que esses animais são a principal fonte de infecção (da Silva et al., 2014).

Os primatas não humanos do Novo Mundo e os marsupiais são altamente suscetíveis à toxoplasmose (Miller et al., 1972; 2003). Contudo, num estudo de

de Camps et al. (2008) não foram detectados anticorpos para *T. gondii* em nenhum dos 36 primatas não humanos do Novo Mundo pesquisados em zoológicos dos Estados Unidos. A investigação desta infecção em primatas é importante para entender a relação hospedeiro-parasito (Ekanayake et al., 2004) e testar vacinas antes da sua utilização em seres humanos (Escajadillo e Frenkel, 1991).

Embora a toxoplasmose se encontre amplamente descrita em marsupiais, existem poucos estudos de genotipagem que permitam identificar as linhagens envolvidas (Fernández-Aguilar et al., 2013).

A infecção por *T. gondii* em mamíferos marinhos é intrigante e merece discussão especial, pelo fato de que a maioria deles se alimentam de animais aquáticos de poiquilotérmicos, existindo casos de mortalidade em algumas espécies. Além disso, esses animais podem servir como sentinelas da contaminação dos oceanos por oocistos de *T. gondii* (Tenter et al., 2000; Conrad et al., 2005). Existem inúmeros relatos de infecções por *T. gondii* em mamíferos marinhos, incluindo lontras-marinhas (*Enhydra lutris*), golfinhos (*Delphinidae*), focas (*Phocidae*), morsas (*Odobenus rosmarus*) e baleias (*Mysticeti*), com prevalências que variam entre 47% a 100% (Robert-Gangneux e Dardé, 2012). Um estudo em cetáceos na costa mediterrânea espanhola revelou que a infecção por *T. gondii* é frequente em, pelo menos, três espécies de golfinhos (Cabezón et al., 2004).

A elevada prevalência de infecção por *T. gondii* em espécies de mamíferos marinhos enfatiza a importância do transporte aquático de oocistos como uma fonte de exposição ao agente parasitário (Miller et al., 2002; Conrad et al., 2005). A fonte de infecção dos mamíferos marinhos não se encontra totalmente esclarecida. A fonte de infecção mais provável talvez seja a ingestão de oocistos feita diretamente a partir de água do mar ou de tecidos de animais que tenham ingerido oocistos (Dubey, 2004). O papel dos invertebrados marinhos no ciclo de vida de *T. gondii* é desconhecido. Embora *T. gondii* não parasite animais poiquilotérmicos, os moluscos filtram a água podendo, assim, concentrar os oocistos (Lindsay et al., 2004). Relatos de infecção por *T. gondii* em mamíferos aquáticos no Brasil estão restritos a poucos estudos de espécies como o Boto-cinza (*Sotalia guianensis*) realizado no estado do Rio de Janeiro (Bandoli e Oliveira, 1977). Outros estudos como os feitos por Santos et al. (2011)

encontraram anticorpos em Boto-cor-de-rosa (*Inia geoffrensis*) em vida livre no Rio Amazonas e em manatim-da-amazônia (*Trichechus inunguis*), cativos da Amazônia brasileira (Mathews et al., 2012).

Em junho de 2018 a *National Geographic* fez uma reportagem demonstrando a morte de duas focas-monge-do Havaí (*Monachus schauinslandi*), gestantes. Após a necrópsia os médicos veterinários conseguiram diagnosticar que os animais haviam morrido devido a toxoplasmose. No ano de 2013, cientistas estimaram que pelo menos metade das lontras macho da Califórnia tinham a doença. Pesquisadores do sul do Chile também relataram a infecção pelo parasito em lontras de rio da região, evidenciando uma soroprevalência de 77% (Roth, 2018).

1.2.8. Manifestações clínicas

Dentro do filo Apicomplexa, *Toxoplasma gondii* é o único que pode infectar várias espécies de hospedeiros e tecidos, provocando um elevado número de manifestações clínicas; as mais frequentes estão listadas no Quadro 1.

Certos grupos taxonômicos, como ratazanas, galinhas, bovinos, equinos e primatas não humanos do Velho Mundo, são mais resistentes à infecção, enquanto outros são clinicamente suscetíveis, como os primatas não humanos no Novo Mundo e os marsupiais australianos (Wolf, 2003; Dubey, 2009b).

Quadro 1. Manifestações clínicas causadas por *T. gondii* (Wolf, 2003).

Condição clínica	Manifestações clínicas
Toxoplasmose aguda disseminada	Febre, letargia, alterações respiratórias, corrimento nasal e ocular, enterite hemorrágica, linfadenite e morte
Retinocoroidite	Hemorragia ou descolamento da retina
Uveíte anterior	Aumento de proteínas e células inflamatórias no humor aquoso. É um sinal de inflamação intraocular.
Encefalite	Incoordenação, paresia, tremores, deslocamento em círculos e opistótomos
Infecção congênita	Aborto, morte neonatal e cegueira

1.2.8.1. Manifestações clínicas em animais domésticos

A infecção por *T. gondii* nos gatos domésticos é tipicamente subclínica. Porém, os animais jovens infectados congenitamente são os mais propensos a apresentarem manifestações clínicas, podendo-se observar encefalomielite e

pneumonia. Os gatos adultos podem apresentar pirexia, inflamação ocular, anorexia, letargia, desconforto abdominal, alterações neurológicas e gastrointestinais e hiperestesia muscular (Vollaire et al., 2005; Dubey e Jones, 2008). Apesar dos gatos de qualquer idade poderem ir a óbito devido à doença, os jovens e aqueles imunocomprometidos são os mais suscetíveis (Dubey e Carpenter, 1993a, b). A lesão mais frequentemente observada é a pneumonia intersticial felina (Dubey, 1986).

A toxoplasmose em cães imunocomprometidos está associada a infecções concomitantes como a cinomose (Dubey e Beattie, 1988) e as lesões mais frequentes são: pneumonia, hepatite e encefalite (Dubey e Lappin, 2006). Segundo estudo feito por Sorte et al. (2015) em 269 cães de Cuiabá, MT, foi observado que 58 (44,3%) dos cães infectados com *T. gondii* apresentaram sintomatologia, incluindo perda de peso (20,6%), linfadenopatia generalizada (16%), esplenomegalia (15,2%), uveíte e conjuntivite (11,4%).

Cabe ressaltar que, cães com doenças neurológicas apresentam sintomatologias que podem ser confundidas com toxoplasmose. Sendo assim, seria conveniente fazer o diagnóstico diferencial da toxoplasmose com as raiva, a cinomose entre outras (Moretti et al., 2002).

Com relação aos animais de produção, a infecção aguda durante a gestação provoca, com frequência, morte e reabsorção embrionária, morte fetal, mumificação, aborto, natimorto e morte prematura, especialmente em caprinos e ovinos (Dubey e Beattie, 1988; Tenter et al., 2000; Dubey, 2010). Os caprinos são os animais de interesse pecuário mais suscetíveis à infecção, podendo desenvolver manifestações clínicas mais graves envolvendo o fígado, os rins e o cérebro (Dubey e Beattie, 1988; Dubey, 2010). Os surtos de toxoplasmose em suínos causam maior mortalidade nos exemplares mais jovens da espécie (Dubey e Beattie, 1988; Cook et al., 2000). Podem também ocorrer surtos esporádicos e difundidos em leporídeos e aves (Dubey e Beattie, 1988).

Nos animais domésticos podem ser encontradas lesões em vários locais incluindo pulmões, sistema linfático, coração, músculo esquelético, pâncreas, globo ocular, intestinos e SNC. As lesões pulmonares são as mais frequentemente observadas e variam de focos necróticos cinzentos irregulares a pneumonia hemorrágica (Jubb, 1993). Embora pouco frequentes em animais com o SNC afetado, as lesões macroscópicas podem ser limitadas, mas podem

estar presentes lesões como hemorragia, infarto, edema cerebral ou dilatação ventricular. Outros achados frequentes incluem esplenomegalia, linfadenite, efusão pleural, pericárdica e peritoneal e necrose do córtex renal. Nos casos de aborto ou natimortos em pequenos ruminantes, focos necróticos brancos e de reduzido tamanho estão presentes nos cotilédones (Wolf, 2003).

1.2.8.2. Manifestações clínicas em animais silvestres

A maioria das infecções em aves é assintomática. Todavia, a doença pode resultar em pneumonia, vasculite, hepatopatia, miocardite e encefalite. As manifestações clínicas incluem letargia, anorexia, dispneia, alterações oculares como a cegueira, alterações do SNC, paralisia e alterações gastrointestinais, tais como diarreia (Patton, 1993; Dubey, 2002).

Aparentemente, algumas espécies ou raças de pombos-comum (*Columba livia*) parecem ser mais suscetíveis à toxoplasmose do que as outras espécies de aves (Dubey, 2002). Entre todas as espécies de aves suscetíveis à infecção por *T. gondii*, os casos mais graves foram relatados em canários (*Serinus canarius*) no Uruguai, Austrália, Itália, Nova Zelândia, Reino Unido e EUA (Dubey, 2002). Não estão descritas manifestações clínicas nem em patos silvestres, nem em pardais e a doença é pouco frequente em pinguins e em aves de rapina (Dubey, 2002).

A infecção por *T. gondii* já foi diagnosticada histologicamente em espécies mantidas em jardins zoológicos, tais como o mainá-de-crista (*Acridotheres cristatellus*) nos Países Baixos, no pássaro-cetim (*Ptilornorhynchus violaceus*), no pergolero-regente (*Sericulus chrysocephalus*), no bulbul-de-bigode-vermelho (*Pycnonotus jocosus*), no periquito-regente (*Polytelis anthopeplus*) e no periquito-cabeça-de-ameixa (*Psittacula cyanocephala*) na Austrália (Dubey, 2002; Hartley e Dubey, 1991).

A maioria dos mamíferos infectados desenvolvem infecções assintomáticas. Contudo, a virulência da linhagem do parasito e a suscetibilidade do hospedeiro podem influenciar a patogenicidade no hospedeiro (Innes, 1997; Hill et al., 2005; Parameswaran et al., 2010).

A toxoplasmose provoca manifestações clínicas graves e é muitas vezes fatal em marsupiais australianos, em primatas não humanos do Novo Mundo e em gatos-de-pallas (*Felis manul*) (Dubey e Beattie, 1988; Kenny et al., 2002; Brown

et al., 2005). Nestas e noutras espécies suscetíveis, a pneumonia intersticial é a lesão mais frequentemente observada (Patton et al., 1986; Canfield et al., 1990; Cunningham et al., 1992).

Apesar da infecção por *T. gondii* ser frequente nos felídeos silvestres, a toxoplasmose é pouco frequente e normalmente benigna. No entanto, existem registros de alguns casos de doença fatal com um quadro agudo e disseminado (Dubey et al., 1987; Dubey, 2010). O gato-de-pallas (*Otocolobus manul*) e o gato-do-deserto (*Felis margarita*), ao contrário dos humanos, se infectados antes da gestação podem transmitir o parasito repetidamente à descendência. Os felinos jovens infectados congenitamente podem ir a óbito devido a toxoplasmose aguda.

Os lémures e os primatas do Novo Mundo são muito suscetíveis à infecção por *T. gondii*, em particular os macacos-esquilo de Collins, também conhecido como macaco-de-cheiro (*Saimiri collinsi*) (Dubey e Beattie, 1988; Dubey, 2010). A toxoplasmose aguda é considerada uma doença parasitária fatal em primatas do Novo Mundo (Cunningham et al., 1992; Dietz et al., 1997; Juan-Sallés et al., 1998; Epiphonio et al., 2000; 2003). O curso da infecção, em alguns casos, ocorre em um a dois dias, no qual ocorre sinais inespecíficos como letargia, depressão, inapetência, alterações digestivas e respiratórias (Dubey e Jones, 2008) podendo levar o animal a óbito. A forma crônica com afecção neurológica é pouco frequente e inclui manifestações clínicas como ataxia, anorexia, cabeça inclinada, deslocamento em círculos e paresia (Johnson-Delaney, 2009). Não obstante, o curso da doença varia com a espécie do primata neotropical envolvida. Os saguis (*Callithrix* sp.), por exemplo, podem morrer entre um a onze dias após a primoinfecção (Potkay, 1992). Apesar dos primatas do Velho Mundo serem mais resistentes à toxoplasmose do que as espécies neotropicais (Innes, 1997), existe um caso descrito de toxoplasmose em macaco rhesus (*Macaca mulatta*) que foi a óbito (Wong e Kozek, 1974).

Entre os marsupiais australianos, os macrópodes são altamente suscetíveis a este protozoário, especialmente os cangurus, podendo morrer subitamente, sem manifestações clínicas (Canfield et al., 1990; Bermúdez et al., 2009; Sós et al., 2012), ou apresentar perda de visão, alterações digestivas e neurológicas e, praticamente qualquer órgão pode ser afetado (Dubey e Odening, 2001). Vários casos de toxoplasmose grave em macrópodes encontram-se descritos em

jardins zoológicos (Dubey e Crutchley, 2008) e as infecções assintomáticas não são frequentes (Fernández-Aguilar et al., 2013).

Dentre os ruminantes silvestres, a saiga (*Saiga tatarica*) desenvolve geralmente a forma fatal da doença (Sedlák et al., 2004). A infecção assintomática foi identificada em nilgós (*Boselaphus tragocamelus*) mantidos em zoológicos da Alemanha e da Polônia (Ippen et al., 1980). O único caso de aborto determinado por *T. gondii* em bovídeo silvestre foi evidenciado em boi-almiscarado (*Ovibos moschatus*) no zoológico de São Francisco, EUA (Crawford et al., 2000). As renas (*Rangifer tarandus*) são os únicos ruminantes não pertencentes à família Bovidae com casos relatados de aborto por *T. gondii* (Dubey et al., 2002).

Nos ungulados de cativeiro, os órgãos mais frequentemente afetados nas infecções pelo protozoário são os pulmões, o fígado, o cérebro, a placenta, o globo ocular, o baço, os linfonodos e a glândula adrenal. Os sinais neurológicos são pouco frequentes (Stovar, 1993).

A transmissão transplacentária de *T. gondii* em mamíferos marinhos encontra-se pouco documentada. Foram relatadas infecções congênitas por *T. gondii* em cetáceos de vida livre e de cativeiro com casos de aborto, natimorto (Jardine e Dubey, 2002; Resendes et al., 2002). Esta infecção é uma causa de morte em lontras-marinhas (Miller et al., 2002), tendo sido observado um caso de transmissão transplacentária com presença de meningoencefalite em um neonato associada ao parasito (Miller et al., 2008).

1.2.8.3. Infecção de *Toxoplasma gondii* em seres humanos

A infecção por *T. gondii* tem distribuição mundial (Ferroglio et al., 2014), variando com a localização geográfica, o grupo populacional e a idade. Dado que os fatores climáticos afetam a sobrevivência dos oocistos, as prevalências mais elevadas verificaram-se em países tropicais com clima quente e úmido, e, inversamente, prevalências mais baixas foram observadas em regiões áridas, muito frias ou em grandes altitudes. No entanto, fatores como os hábitos alimentares, incluindo o modo de preparar os alimentos e tipos de carne, legumes ou vegetais consumidos, hábitos higiênicos, fatores econômicos, sociais ou culturais, bem como a qualidade da água e saneamento explicam em

grande parte os diferentes valores de soro prevalência humana (Bahia-Oliveira et al., 2003; Ertug et al., 2005; Jones e Dubey, 2010).

As infecções transmitidas por oocistos podem ser mais graves do que as infecções provocadas pelos cistos teciduais (Smith, 1993; Bowie et al., 1997; Cook et al., 2000; Tenter et al., 2000), havendo surtos de toxoplasmose aguda em humanos epidemiologicamente ligados ao consumo de água. O maior surto de toxoplasmose, comprovadamente de veiculação hídrica, encontra-se descrito na Colúmbia Britânica, Canadá, e está associado à contaminação de um reservatório de água municipal com oocistos de *T. gondii* excretados por pumas (*Puma concolor*) (Isaac-Renton et al., 1998; Aramini et al., 1998).

Estima-se que 25% a 30% da população mundial tenha sido exposta ao parasito (Schlüter et al., 2014). Nos EUA e no Reino Unido, estima-se que 16% a 40% da população esteja infectada. Na Europa e na América do Sul, a prevalência de infecção varia de 50% a 80% (Dubey e Beattie, 1988; Tenter et al., 2000; Sobral et al., 2005), sendo a prevalência na Europa maior do que nos EUA e no Canadá (Dubey, 2010). *Toxoplasma gondii* é um dos três agentes patogênicos mais importantes transmitidos por alimentos na Europa e nos EUA (Mead et al., 1999; Dubey, 2000).

Em um estudo com a população portuguesa, entre 1970 a 1980 foi observada uma soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 47% em 1675 indivíduos (Ângelo, 1983). Ainda em Portugal, em 2005 foi evidenciada uma prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 28% em todo o país, em 7362 parturientes avaliadas com diferentes testes sorológicos (Machado, 2005). Na região de Lisboa e Vale do Tejo, em um estudo com 155 grávidas, verificou-se uma prevalência de 21,9% (Sevivas, 2011). No norte de Portugal, em 2005, verificou-se uma prevalência de 31,4% em mulheres gestantes (Machado, 2005) e, em 2011, constatou-se um valor de soroprevalência de 24,4% em 401 mulheres em idade fértil (Lopes et al., 2011a).

Na Europa, há um grande número de casos de toxoplasmose, provavelmente pelo grande consumo de carne crua ou malcozida. Cherterton e Perkins (1967) afirmaram que há uma alta prevalência da infecção na América Latina: México, América Central e partes do centro e do norte da América do Sul, com exceção das ilhas mais ao sul e do Caribe. Chacin-Bonilla et al. (2003) argumentaram que existe, mesmo nestas grandes áreas geográficas, a soroprevalência com

variação considerável, dependendo da região, idade, sexo, etnia, e das condições sanitárias e socioeconômicas, especialmente o contato com gatos e com o solo. Por exemplo, em comunidades de baixas condições de saúde pública como a região andina de Cuzco, no Peru, em criadores de camélídeos, a soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em alpacas foi de 35%, enquanto a doença em humanos nesta região foi baixa (Ramirez et al., 2005).

O primeiro caso humano de toxoplasmose na China foi relatado em 1964 na província de Jiangxi (Zhou et al. 2011). Li et al. (2017) onde foram testadas 600 amostras de pessoas dessa província sendo, 64 (10,4%) positivas para anticorpos anti-*T. gondii*. Outro estudo feito em diferentes regiões da China por Pan et al. (2017) confirmaram uma soroprevalência que variou entre 2,3% a 35,6%.

Em Cuba, González (2012) relatou a infecção pelo protozoário nos cubanos desde 1943 e demonstrou em 1993 uma soroprevalência de 29,7%. No entanto, Gavito et al. (2003) confirmaram uma soroprevalência de 50,2% dentre as 3672 amostras no período de 1999 a 2000. No ano de 2006, Rodríguez et al. e Martínez et al. na província de Havana evidenciaram uma soroprevalência de 42,8%. Outro estudo realizado por Sánchez et al. (2012) em 562 doadores de sangue na província de Guantânamo, no período de janeiro até março de 2010, relataram a presença de IgG anti-*T. gondii* em 47% das pessoas pesquisadas. Outros resultados da pesquisa realizada por Rodríguez (2013), entre janeiro e maio de 2013, apontam 612 (55,8%) casos com a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. O autor constatou que a província de Havana apresentou o maior número de casos com um total de 325 (53,1%), seguida das províncias de Villa Clara e Ciego de Ávila com 60 (9,8%) e 41 (6,7%), respectivamente. García et al. (2015) observaram uma soroprevalência de 58% de IgG anti-*T. gondii* em crianças na província de Havana.

No Brasil, diferentes prevalências, de 20 a 80% em humanos, foram verificadas nas mais variadas regiões devido a índices de chuvas e temperatura, além da cobertura vegetal e o tipo do solo que também afetam o microclima onde estão os oocistos favorecendo a sua esporulação (Amendoeira et al., 1999). Estudo feito por da Silva et al. (2017) no Sul do Brasil em pacientes HIV positivos mostraram que a prevalência para IgG e IgM anti-*T. gondii* foi de 57,90% (447/772). Muller e Torquetti (2017) realizaram uma pesquisa em 407 gestantes

do município de Paranaguá, estado do Paraná, onde observaram que a prevalência de infecção ativa foi de 1,7% (n=07); 62,9% (n=256) não demonstraram infecção aguda ou pregressa e 35,3% (n=144) apresentaram imunidade para a infecção. Vários surtos foram descritos por Lopes e Berto (2012) no Brasil incluindo: Bragança Paulista, SP (1967) (30 casos); Santa Isabel do Ivaí, PR (2002) (426 casos); Monte Dourado, PA (2004) (40 casos); Santa Vitória do Palmar, RS (2006) (10 casos); Anápolis, GO (2006) (168 casos) e Goiânia, GO (2006) (11 casos). Outro surto também foi descrito por Morais et al. (2016) onde foram avaliados 270 indivíduos do Município de Ponta de Pedras, Estado do Pará dos quais 73 (27,04%) foram casos confirmados. O surto mais recente foi detectado na região de Santa Maria, Rio Grande do Sul, onde, até 20/10/2018, 809 dos casos foram confirmados segundo entrevista realizada ao Ministério de Saúde (G1 RS, 2018), ainda sem causa definida, sendo a água a possível fonte de infecção. Recentemente, no dia 10 de janeiro de 2019, foi a óbito a primeira vítima do surto de Santa Maria; era uma criança de cinco meses de idade que estava internada desde seu nascimento em agosto de 2018 (GAUCHAZH.SAÚDE, 26/01/2019).

As mais graves complicações da toxoplasmose são encontradas em pacientes com imunocomprometimento por neoplasias e terapia anti-tumoral ou com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). A toxoplasmose está no topo da lista das doenças que levam à morte de pacientes com AIDS (Dubey, 2010).

Estudos ressaltam a possibilidade da infecção por *T. gondii* ser um fator de risco para o desenvolvimento de distúrbios mentais ou alterações de comportamento como a esquizofrenia (Torrey e Yolken, 2003; Mortensen et al., 2007; Torrey et al., 2007; Ansari-Lari et al., 2017). Ainda, têm sido relatados casos graves de toxoplasmose em indivíduos imunocompetentes devido a infecção com genótipos atípicos de *T. gondii* (Robert-Gangneux e Dardé, 2012; Sobanski et al., 2013).

A infecção congênita ocorre na maioria das vezes quando uma mulher adquire a primoinfecção durante a gestação e pode resultar em placentite, morte neonatal, parto prematuro, aborto, malformações congênitas ou cegueira e atraso mental pós-natal (Dubey e Beattie, 1988; Tenter et al., 2000; Amendoeira e Camillo-Coura, 2010). A gravidade da doença é dependente da fase de

gestação quando a mulher adquire a infecção, sendo que as infecções congênicas adquiridas durante o primeiro trimestre são mais graves do que aquelas adquiridas no segundo e terceiro trimestres (Dubey, 2004; Montoya e Liesenfeld, 2004; Amendoeira e Camillo-Coura, 2010).

A mãe raramente apresenta sinais clínicos. Na placenta desenvolvem-se lesões focais e o feto pode ser infectado, e, se o feto não for tratado, pode mais tarde desenvolver alterações neurológicas ou oculares. A doença ocular é a seqüela mais frequente da toxoplasmose congênita (Desmonts e Couvreur, 1974; Wilson et al., 1980; Dubey, 2004). A maioria das crianças infectadas no terceiro trimestre de gestação, não apresenta sinais clínicos ao nascimento. Todavia, estas podem apresentar discretos sinais clínicos como: visão ligeiramente diminuída, ou, embora pouco frequentes, sinais mais graves de doença, como a Tétrade de Sabin (retinocoroidite, hidrocefalia ou microcefalia e calcificação intracraniana), ou outros sinais clínicos como desorientação, sonolência, hemiparesia, alterações de reflexo, convulsões e coma. Cabe ressaltar que a hidrocefalia é a lesão menos frequente, mas é uma das mais grave da toxoplasmose humana, não tendo sido verificada em outros animais (Dubey, 2004).

1.2.9. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico clínico da infecção por *T. gondii* torna-se difícil porque as manifestações da doença são inespecíficas. Estas podem ser confundidas com outras doenças infecciosas, não permitindo chegar a um diagnóstico definitivo, sendo, portanto, necessário, o uso de técnicas laboratoriais para sua confirmação (Hill e Dubey, 2002). Deste modo, o diagnóstico laboratorial da infecção pode ser estabelecido por meio de exame histológico, isolamento do parasito, análise de fezes para felídeos, métodos moleculares ou sorológicos (Montoya, 2002; Montoya e Liesenfeld, 2004; Dubey, 2010).

1.2.9.1. Detecção do agente

a) Citologia e imunohistoquímica

O diagnóstico da infecção aguda é estabelecido pela detecção de taquizoítos em secções de tecido ou esfregaços de fluidos corporais incluindo fluído cerebroespinal, líquido amniótico e lavagem broncoalveolar ou transtraqueal utilizando técnicas de imunoperoxidase. O diagnóstico pode também ser obtido

pelo isolamento de *T. gondii* em tecidos do hospedeiro removidos por biópsia ou durante a necropsia (Dubey, 2010).

Um diagnóstico rápido pode ser feito pelo exame microscópico de líquido cerebrospinal ou de aspirados de cérebro corados com Giemsa (Montoya, 2002; Dubey, 2010). As formas parasitárias bem preservadas apresentam forma de meia-lua e coram bem com qualquer um dos corantes de Romanowsky. Não obstante, os organismos em degeneração, que são frequentemente encontrados nas lesões, aparecem, em geral, com forma oval e o citoplasma cora-se mal em comparação com os núcleos. Por conseguinte, o diagnóstico não deve ser feito a menos que os organismos com estrutura típica sejam vistos, porque as células hospedeiras em degeneração podem assemelhar-se ao parasito em deterioração. Os taquizoítos, localizados geralmente no interior de vacúolos, aparecem redondos ou ovais. Ocasionalmente, os cistos teciduais podem ser encontrados nas áreas com lesões e a parede se cora com a cor prata, enquanto que os bradizoítos são fortemente positivos para a coloração pelo ácido periódico de Schiff ("periodic acid Schiff" - PAS) (Hill e Dubey, 2002; Dubey, 2010). Os resultados obtidos com esta técnica são difíceis de interpretar. Deste modo, tem sido aplicada a técnica imuno-histoquímica para identificar cistos teciduais ou taquizoítos de *T. gondii* em cortes de tecidos ou de esfregaços, a qual possui maior sensibilidade e especificidade (Van Loon, 1989; Hill e Dubey, 2002). Esta técnica utiliza anticorpos conjugados com fluoresceína ou peroxidase, permitindo detectar parasitos intactos e frações de antígenos e diferenciar entre outros coccídios de felinos, como *Besnoitia*, *Frenkelia*, *Hammondia*, *Cystoisospora* e *Sarcocystis* (Dubey e Beattie, 1988; Hill e Dubey, 2002).

b) Bioensaio

Devido a dificuldades na observação do parasito pelo exame histológico de tecidos, mesmo em amostras digeridas previamente pela tripsina ou pela pepsina, o isolamento do agente pode ser feito por meio do bioensaio, que é considerado padrão ouro para o diagnóstico. Esta é uma técnica mais sensível e específica do que o exame citológico ou histológico. Envolve a inoculação de fluídos corporais ou de tecidos retirados por biópsia ou *post mortem*, em animais de laboratório ou em culturas celulares. É igualmente possível a administração oral desses tecidos a gatos (Esteban-Redondo et al., 1999; Hill e Dubey, 2002;

Montoya, 2002; Dubey, 2010). Todavia este procedimento é caro e poucos laboratórios no mundo têm instalações adequadas para realizá-lo (Dubey, 2010).

O bioensaio em camundongos é pouco prático para uma grande quantidade de amostras (Hill e Dubey, 2002) e a sensibilidade depende do estágio e número de parasitos nos tecidos. O número de formas parasitárias pode ser demasiado pequeno para ser detectado. Neste caso, pode-se realizar o bioensaio em gatos, visto que estes podem ingerir maiores quantidades de tecidos.

c) Exame coprológico

O exame coproparasitológico para a pesquisa de oocistos não apresenta grande valor diagnóstico. Os testes sorológicos são mais sensíveis do que a utilização isolada do exame de fezes para determinar a infecção em felinos (Dubey, 2004, 2009a).

Embora os oocistos de *T. gondii* já tenham sido isolados a partir do solo, presentemente não há nenhum método simples e confiável disponível para detectar os oocistos no ambiente (Dubey et al., 1996; Hill e Dubey, 2002).

Os oocistos são detectados por meio do exame de fezes em felinos infectados, recorrendo-se, muitas vezes, a métodos de concentração (por exemplo, a flutuação numa solução concentrada de sacarose) devido ao fato de que o número de oocistos de *T. gondii* é muito reduzido para ser detectado por esfregaço direto (Ruiz e Frenkel, 1980; Dubey e Beattie, 1988). Contudo, a sensibilidade desse método é baixa quando há excreção de um reduzido número de oocistos, como no caso de infecção após ingestão de taquizoítos ou oocistos (Dubey, 1996).

Tendo em conta que o período de eliminação dos oocistos é de curta duração e que, em um dado momento menos de 1% dos gatos pode estar eliminando oocistos, e as dimensões dos oocistos são reduzidas (Dubey e Beattie, 1988), a detecção desta forma infectante em exames fecais para levantamentos epidemiológicos é impraticável e pouco informativa (Dubey e Frenkel, 1972).

O diagnóstico presuntivo da toxoplasmose pode ser feito se forem encontrados oocistos com 10 a 12 µm em fezes de gato. No entanto, para um diagnóstico definitivo, devem ser feitos bioensaios em camundongos para os diferenciar de outras coccídios como: *Hammondia hammondi*, *H. heydorni*,

Neospora caninum e o gênero *Besnoitia*, cujos oocistos são morfologicamente semelhantes (Dubey e Beattie, 1988; Lindquist et al., 2003; Dubey, 2010).

Atualmente não existem testes que distingam infecções originadas pela ingestão de oocistos ou pela ingestão de cistos teciduais como via de infecção. A evidência disponível para a via de infecção por oocistos baseia-se em estudos epidemiológicos (Hill e Dubey, 2002).

d) Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A reação em cadeia da polimerase (“polymerase chain reaction”–PCR) é uma técnica muito sensível, pois permite detectar o ácido desoxirribonucleico (DNA) de apenas um taquizoíto. Pode proporcionar um diagnóstico rápido e é mais sensível que a inoculação em camundongos (Bastien, 2002; Dubey, 2010). Porém, a detecção de DNA de oocistos pode apresentar problemas adicionais devido à presença de inibidores nas amostras fecais, principalmente devido as bactérias intestinais e alguns componentes da dieta incluindo hidratos de carbono, e à dificuldade da liberação de DNA a partir do oocisto. Esta técnica não distingue ainda, oocistos viáveis de não viáveis (Dubey, 2010).

O DNA do parasito pode ser detectado em amostras de carne, aspirado de medula óssea, líquido amniótico, pleural, peritoneal, ascítico, cerebrospinal ou ocular, na lavagem bronco-alveolar ou transtraqueal, no sangue, na urina ou na saliva (Buxton, 1998; Owen et al., 1998; Montoya, 2002), sendo as amostras mais adequadas: o músculo cardíaco e esquelético, o cérebro, a placenta e o cordão umbilical (Mason et al., 2010).

e) Métodos sorológicos para a pesquisa de anticorpos específicos

Para a realização de investigações e estudos epidemiológicos o diagnóstico sorológico é o mais utilizado, uma vez que a infecção é frequentemente assintomática no hospedeiro imunocompetente (Bastien, 2002; Weiss e Kim, 2011). O uso de testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos é considerado o método inicial para o diagnóstico indireto (Montoya, 2002).

Existem numerosos métodos sorológicos para a detecção de anticorpos humorais: o teste de lise (*dye-test*–DT), o teste de imunofluorescência indireta (“indirect fluorescent antibody test” – IFAT), o ensaio imunoenzimático (“enzyme linked immunosorbent assay” – ELISA), o teste de aglutinação em látex (“latex agglutination test” – LAT), o teste de hemaglutinação indireta (“indirect

hemagglutination test” – IHAT), o teste de aglutinação direta (“direct agglutination test” – DAT) e o teste de aglutinação microscópica (“microscopic agglutination test” - MAT) (Dubey, 2010).

e.1. Teste de lise

A introdução do DT, também conhecido por teste do corante Sabin-Feldman, permitiu comprovar a elevada prevalência de *T. gondii* em muitas áreas do mundo. Este teste detecta IgM e IgG e baseia-se na lise dos parasitos pela fixação do complemento na reação entre o antígeno e o anticorpo utilizando taquizoítos vivos. Os taquizoítos não afetados pelo anticorpo são uniformemente corados na presença de azul de metileno e os que sofrem citólise não são corados (Tenter et al., 2000; Dubey, 2010).

O DT é altamente específico e sensível, sem evidência de falsos resultados em humanos (Dubey, 2008). No entanto, é caro, requer um elevado grau de perícia técnica e é potencialmente perigoso devido ao uso de organismos vivos. A sua utilização no diagnóstico da infecção toxoplásmica de animais é controversa, especialmente quando utilizado em soro de ruminantes, onde está descrita a existência de resultados falsos negativos. O teste também não funciona com alguns soros de aves (Dubey, 2010).

e.2. Teste da imunofluorescência indireta (RIFI)

A RIFI tem como fundamento a utilização de taquizoítos inativados inteiros e visualização com um microscópio de epifluorescência (Dubey, 2010). Esta reação apresenta boa especificidade e sensibilidade (Weiss e Kim, 2011). As desvantagens da RIFI incluem a necessidade de equipamento especializado, de conjugados espécie-específicos e a existência de reações cruzadas (Dubey, 2010). Pelo fato de necessitar usar conjugado específico para cada espécie animal, este teste tem limitações no uso em animais silvestres (Silva, 2007).

e.3. Ensaio imunoenzimático (ELISA)

Hoje em dia, a maioria dos laboratórios clínicos utiliza o ELISA ou suas variações para o rastreio de rotina de anticorpos IgG e IgM específicos para *T. gondii* (Robert-Gangneux e Dardé, 2012). Este teste utiliza taquizoítos lisados (Dubey *et al.*, 1995), encontra-se comercialmente disponível e é muito usado em estudos soropidemiológicos, apresentando elevada sensibilidade e especificidade (Montoya e Liesenfeld, 2004). O ensaio pode ser automatizado

de modo a que um grande número de soros seja rapidamente analisado, mas requer um leitor especial de ELISA para quantificar a cor da reação (Dubey, 2010). Este teste é menos prático e mais caro e complexo do que o MAT (Garcia et al., 2006).

e.4. Testes de aglutinação

Segundo Silva (2007), testes baseados na aglutinação entre antígeno e anticorpo que não necessitam de conjugado são de baixo custo e fáceis de serem executados, sendo indicados para o uso em felídeos e outros animais silvestres.

No teste de aglutinação em látex (LAT), o padrão de aglutinação é observado quando o soro a ser testado é adicionado. O teste encontra-se comercialmente disponível, é fácil de executar não precisando equipamento especial (Dubey, 2010). Quando comparado ao MAT e ao ELISA, este teste é menos específico e sensível (Sroka et al., 2008).

No teste de hemoaglutinação indireta (IHAT), os eritrócitos são revestidos com antígeno solúvel de taquizoítos aglutinando na presença de soro positivo, permitindo detectar IgG. Embora de fácil execução e elevada sensibilidade, as variações técnicas deste teste tornam-no impraticável. Além disso, detecta anticorpos mais tarde do que o DT, os títulos permanecem elevados por um longo período, sendo menos sensível que o DT ou o IFAT. O IHAT também é frequentemente negativo em infecções congênicas e pode ser inespecífico em animais com títulos inferiores a 128 (Dubey et al., 1995; Dubey, 2010).

No DAT não são necessários equipamentos ou conjugados especiais (Dubey, 2008). O desenvolvimento do teste de aglutinação direta simples auxilia no diagnóstico sorológico da infecção por *T. gondii* em humanos e outros animais. O DAT foi desenvolvido por Fulton (1965) e baseia-se na pesquisa de IgG por meio da utilização de taquizoítos inativados por formalina, que aglutinam na presença de anticorpos específicos, apresentam pouca sensibilidade e especificidade (Dubey, 2010). Em 1980, Desmonts e Remington melhoraram o DAT aumentando a sua especificidade ao incorporarem o 2-beta-mercaptoetanol (2-ME), um composto que permite inativar os anticorpos IgM específicos e não-específicos, possibilitando assim a detecção apenas dos anticorpos IgG em caso de reação positiva. Posteriormente, Dubey e Desmonts (1987) denominaram-no

“modified agglutination test” (teste de aglutinação modificado) ao alterarem ligeiramente a técnica pela adição do 2-ME como última etapa.

O MAT tem sido utilizado para o diagnóstico da toxoplasmose em animais (Dubey, 2008), sendo o método mais adequado para a detecção de *T. gondii* em pesquisas epidemiológicas em aves (Devada e Anandan, 2000). As vantagens adicionais deste teste seriam não requerer conjugados espécie-específicos nem equipamento especial (Weiss e Kim, 2011), é simples de executar, o antígeno é estável durante meses a 4°C e funciona para todas as espécies de aves e de mamíferos infectados por *T. gondii* (Dubey, 2010). Apresenta alta sensibilidade e especificidade para a detecção de anticorpos para *T. gondii* (Weiss e Kim, 2011), validada pela comparação de amostras sorológicas e isolamento do parasito de suínos natural e experimentalmente infectados (Dubey et al., 1995; Dubey, 1997b). O MAT é um teste simples e pouco dispendioso para a vigilância de mulheres soronegativas durante a gestação e para a detecção de soro conversões em todos os animais (Desmonts e Remington, 1980).

O resultado da análise de uma amostra soropositiva apenas estabelece que o hospedeiro foi infectado no passado. Deve-se efetuar coleta de duas amostras a partir do mesmo indivíduo, devendo ser feita a segunda coleta duas a quatro semanas após a primeira. Um título de anticorpos dezesseis vezes maior na segunda amostra de soro é indicativo de infecção aguda. Contudo, isto pode acontecer dentro de seis semanas pós infecção e o título ter atingido o seu máximo antes da suspeita de infecção por *T. gondii* (Dubey, 2010). Um título elevado de anticorpos pode persistir durante meses após a infecção e um aumento no título pode não estar associado à gravidade dos sinais clínicos (Dubey, 2010).

1.2.10. Tratamento

Os fármacos usados para o tratamento sistêmico da toxoplasmose possuem efeito sobre os taquizoítos podendo controlar a infecção ativa, mas não eliminam a infecção crônica, uma vez que não possuem atividade contra os bradizoítos dentro de cistos teciduais (Dubey, 2010). A administração de doses elevadas de corticosteroides pode agravar a toxoplasmose em gatos experimental e naturalmente infectados, potencializando ou reativando a infecção e sua

disseminação. O que pode provocar nova eliminação de oocistos (Dubey e Frenkel, 1974; Samad et al, 1997).

As sulfonamidas e a pirimetamina são os fármacos de eleição para o tratamento de toxoplasmose, atuando sinergicamente (Montoya e Remington, 2008). Esta combinação reduz a mortalidade fetal em ovelhas com infecção uterina (Buxton et al., 1993).

As sulfonamidas mais utilizadas incluem a sulfadiazina, a sulfamerazina e a sulfametazina (Dubey, 2010). Geralmente, qualquer sulfonamida que se difunde através da membrana da célula hospedeira é útil na terapia contra *T. gondii*. Embora estes fármacos tenham ação benéfica, se administrados na fase aguda da doença, quando há multiplicação ativa do parasito, não erradicam a infecção. Parece que têm pouco efeito na infecção subclínica. Todavia, o crescimento de cistos nos tecidos em camundongos foi restringido com sulfonamidas (Beverley, 1958). Alguns efeitos secundários das sulfonamidas incluem erupções cutâneas e trombocitopenia (Sobrin et al., 2007).

A administração de pirimetamina pode afetar a hematopoiese, devendo ser acompanhada da administração de ácido folínico. A pirimetamina é também teratogênica, por isso não deve ser utilizada no início da gestação (Montoya e Remington, 2008).

Outros fármacos como a espiramicina, o piritrexin, a roxitromicina, a clindamicina, a ciclosporina A, a atovaquona, o ponazuril também têm sido usadas (Mitchell et al., 2006). A espiramicina pode ser utilizada durante a gestação, pois conduz a elevadas concentrações na placenta, evitando que o parasito atravesse a placenta, mas não trata o feto. Não obstante, possui uma menor eficácia quando comparada com a sulfadiazina e a pirimetamina (Dubey, 2010). A administração de clindamicina apresenta bons resultados, mas pode provocar colite pseudomembranosa (Sobrin et al., 2007; Dubey, 2010).

A lactoferricina é um péptido antimicrobiano, que, se administrado por via oral, possui um efeito protetor contra a infecção (Isamida et al., 1998) e tem efeito parasiticida contra esporozoítos de *T. gondii*, sendo os esporozoítos tratados pouco infectantes para o hospedeiro (Omata et al., 2001).

Os fármacos sulfonamidas, trimetoprim, pirimetamina e clindamicina, quer isoladamente, quer em combinação, têm sido utilizados no tratamento de gatos com toxoplasmose (Dabritz et al., 2007).

O ponazuril, aprovado para o tratamento da mieloencefalite protozoária equina provocada por *Sarcocystis neurona* em cavalos, tem sido estudado para a prevenção e tratamento da infecção por *T. gondii* em gatos domésticos (Mitchell et al., 2004; Dabritz et al., 2007).

Um tratamento de suporte deve ser feito aos gatos com suspeita de toxoplasmose com cloridrato de clindamicina [10 a 12 mg/kg, PO, de 12 em 12 horas (BID)] administrada durante quatro semanas, ou uma combinação de trimetoprim-sulfonamida (15 mg/kg PO, BID) administrada durante quatro semanas (Lappin, 2010).

Lindsay et al. (1995) trataram com sucesso a cegueira observada em canários associada a *T. gondii*, por meio da administração de sulfadiazina e trimetoprim. O fármaco diclazuril foi eficaz no tratamento de corvos-do-havaí (*Corvus hawaiiensis*) (Work et al., 2000).

Schoondermark-Van de Ven et al. (1994) testaram a eficácia do tratamento de fetos de macacos rhesus infectados congenitamente e concluíram que a administração de 20 mg/kg de 24 em 24h (SID) por via endovenosa de espiramicina durante sete semanas foi eficaz após a transmissão vertical ter ocorrido, reduzindo a carga parasitária, mas, uma vez que não atua no cérebro, foi considerado um fármaco quando a mãe está infectada evitando a contaminação do feto e não terapêutico. Para o tratamento da infecção congênita foi eficaz a combinação de piremitamina (1 mg/ml SID, PO) e sulfadiazina (50 mg/ml SID, PO) durante 10 a 13 dias, suplementada com 3,5 mg de ácido folínico uma vez por semana (Schoondermark-Van de Ven et al., 1995).

Para o tratamento de cangurus, quer a combinação de pirimetamina com sulfonamida, quer a combinação de trimetoprim com sulfadiazina ou a clindamicina foi usada com eficácia variável (Blyde, 1999). Foi relatado uma terapia eficaz e bem tolerada com o uso de atovaquona. A absorção é potenciada com dietas ricas em ácidos graxos como a suplementação de amendoim e óleo de canola (Johnson-Delaney, 2000; Dubey e Crutchley, 2008). Foi recomendada uma dose de 100 mg/kg PO, SID, mas a duração do tratamento necessária para a eliminação da infecção em macrópodos ainda é desconhecida (Portas, 2010). Contudo, foi utilizado um tratamento durante 6 a 9 meses (Dubey e Crutchley, 2008), Portas (2010) verificou a redução de manifestações clínicas da doença em macrópodos após 30 dias de tratamento com o fármaco atovaquona. Uma

combinação sinérgica de sulfadiazina e pirimetamina também foi utilizada para tratar a toxoplasmose aguda, mas não eliminou a infecção (Dubey e Odening, 2001).

Outros fármacos usados para o tratamento da infecção por *T. gondii* em macrópodos e primatas estão sumarizados no Quadro 2.

Quadro 2. Fármacos sugeridos para o tratamento da infecção por *T. gondii* em macrópodos e primatas.

Fármaco	Posologia	Referência
Macrópodos		
Atavaquona	100 mg/kg SID, PO ^a , durante 30 dias	Johnson-Delaney, 2000
Clindamicina	11 mg/kg BID, IM ^b , durante 30 dias 15-25 mg/kg BID, PO ou IM	Johnson-Delaney, 2000 Wolf, 2003
Clindamicina-atavaquona	50 mg/kg SID, PO, durante 14 dias	Djurković-Djaković et al., 1999 ^d
Ponazuril	20 mg/kg SID, PO, durante 10 dias	Mitchell et al., 2004
Pirimetamina	0,25-0,5 mg/kg SID,	Wolf, 2003
Trimetroprim-sulfadiazina	15 mg/kg BID, PO	Wolf, 2003
Primatas não humanos do Novo Mundo		
Sulfadiazina	50 mg/kg QID ^c , PO	Johnson-Delaney, 2009
Hominídeos		
Sulfadiazina-pirimetamina	2mg/kg SID durante 3 dias, e posteriormente 1 mg/kg SID durante 28 dias	Johnson-Delaney, 2009

^a Via de administração oral; ^b Via de administração intramuscular; ^c de 6 em 6 horas; ^d Apenas em modelos experimentais

Estudos mais recentes como o realizado por Sanfelice et al. (2015) ressaltaram o uso das estatinas como alternativa terapêutica para a toxoplasmose. Por enquanto, estes estudos têm sido realizados na toxoplasmose experimental. No entanto, esses estudos destacam a relevância das estatinas como alternativa terapêutica.

1.2.11. Prevenção e controle

Sendo a informação o alicerce para a conscientização da população, a educação deve ser a abordagem individual mais prática e poderosa para o controle da infecção pelo protozoário. Os profissionais de saúde têm o papel crucial de alertar o público em geral e em particular mulheres gestantes para as medidas de prevenção de *T. gondii* (Leighty, 1990). Mulheres gestantes,

crianças e pacientes imunocoprometidos pertencem a grupos de risco, dessa forma devem recorrer a programas educacionais para estarem alerta para os perigos da infecção por *T. gondii* (Lindsay et al., 1997; Tenter et al., 2000; Hill e Dubey, 2002).

Medidas para reduzir o risco de infecção humana incluem a lavagem de vegetais e de frutas que são consumidos crus, pois podem estar contaminados com oocistos (Hill e Dubey, 2002) e deve-se evitar o consumo de água não tratada proveniente de lagos, lagoas e rios (Dubey, 2004). Considerando que os taquizoítos são destruídos por pasteurização e aquecimento, é aconselhável proceder à pasteurização ou fervura do leite cru, em particular leite de cabra, antes do consumo humano (Tenter et al., 2000). Uma vez que não existem recomendações específicas de prevenção da transmissão de *T. gondii* por água potável, pois o nível de contaminação é desconhecido, recomendações gerais devem ser incluídas, tais como: boa prática de higiene como a lavagem das mãos com água e sabão após o contato com o solo e de todas as superfícies e materiais que entraram em contato com a carne crua. Esta lavagem é eficaz porque eliminam os estágios de *T. gondii* contidos na carne (Dubey e Beattie, 1988).

O congelamento da carne a uma temperatura interna de -12°C durante 24 horas para destruição dos cistos teciduais (Kotula et al., 1991; Dubey, 2010) e a carne de qualquer animal deve ser bem cozida até que a temperatura interna atinja 67°C antes de ser consumida (1990; Dubey e Jones, 2008). No entanto, os tempos de cozimento variam de acordo com a espessura e o tipo da peça de carne. Os microondas não destroem a forma viável do parasito (Kotula et al., 1991). O tratamento da carne com irradiação gama a 0,5 kGy ou processamento de alta pressão a 400 MPa são eficazes para destruir cistos teciduais (Dubey, *et al.*, 1986; Dubey e Thayer, 1994; Lindsay et al., 2006), bem como oocistos (Lindsay et al., 2005; Dubey et al., 1996; Dubey et al., 1998b). A degustação de carne enquanto se cozinha ou se tempera embutidos caseiros devem ser evitados (Kotula et al., 1991). A salga, a cura, a defumação, e a adição de produtos à carne para realçar a cor e o sabor podem ter um efeito deletério na viabilidade de *T. gondii* na carne, mas ainda não foram descritos como recomendações universais para eliminar o parasito (Dubey, 1997a; Hill et al., 2006).

Devem ser utilizadas luvas com posterior lavagem cuidadosa das mãos, na limpeza das caixas de areia de gatos e em atividades que envolvam o contato com solos potencialmente contaminados com fezes de gato, como é o caso de jardins (Dubey, 2010). A caixa de areia do gato deve ser limpa diariamente tal como os utensílios que estiveram em contato com as suas fezes, a fim de evitar esporulação de oocistos. Esta tarefa não deve ser realizada por pessoas incluídas nos grupos de risco acima citados (Dubey, 2004).

O *status* imunológico de indivíduos imunocomprometidos e de gestantes deve ser avaliado constantemente (Tenter et al., 2000). Adicionalmente, antes de ser dado um tratamento imunossupressor, os indivíduos pertencentes a grupos de risco devem ser submetidos a uma análise sorológica de anticorpos anti-*T. gondii* e assim se proceder à administração profilática de fármacos para a toxoplasmose. Na impossibilidade de realização de testes sorológicos, esses indivíduos devem ser considerados como potencialmente em risco. A decisão de realizar profilaxia a todos os casos de pacientes que estão aguardando transplantes, deve-se considerar a soroprevalência da população em geral num determinado país e o órgão que será transplantado (Baran et al., 2006).

O conhecimento sobre o comportamento ambiental também é importante, bem como a importância potencial da transmissão de oocistos por meio da água ou solos, um aspecto que em Cuba é praticamente nulo, já que os estudos de toxoplasmose se limitam à análise soroepidemiológica e aos casos tratados clinicamente (Rosado e Medina, 2014).

Os médicos veterinários devem aconselhar aos tutores para evitar a coprofagia, das fezes dos gatos, por parte dos cães para evitar a ingestão de oocistos e a sua transmissão mecânica (Frenkel et al., 1995, 2003; Schares et al., 2005). Tendo em conta que os gatos são a chave da transmissão de *T. gondii*, devem ser tomadas medidas preventivas para diminuir a prevalência de infecção nestes animais. É recomendável alimentá-los exclusivamente com dietas comerciais ou alimentos bem cozidos (>65°C), nunca com carne, ossos ou vísceras cruas. Deve-se evitar que gatos tenham acesso ao exterior para reduzir ao máximo a possibilidade de caçar ratos, aves ou invertebrados (Tenter et al., 2000; Dubey, 2004). Os gatos devem ser castrados para controlar a população de felinos em propriedades de explorações agrícolas, locais de armazenamento

de alimentos e coleções de água destinadas aos animais de produção e, também devem ser mantidos e afastados de ovinos e caprinos gestantes (Dubey, 2010).

O acesso a reservatórios de água deve ser vedado (Dubey, 2004) e as latas de lixo devem ser mantidas fechadas para evitar a sua destruição por gatos ou outros animais. As membranas fetais e os fetos abortados dos animais não devem ser manuseados com as mãos sem o uso de luvas, devendo ser enterrados ou incinerados de modo a prevenir a infecção de felídeos e outros animais. Os suínos e outros animais mortos devem ser rapidamente removidos para evitar a necrofagia (Dubey, 1994; 2010).

Para prevenir a infecção por *T. gondii* da fauna silvestre, as vísceras e as carcaças de animais caçados podem representar uma ameaça para os animais suscetíveis, devendo ser incentivada a sua incineração ou enterro, prevenindo deste modo a ingestão dessas por outros animais, especialmente pelos felinos (Dubey e Jones, 2008).

De modo a prevenir a infecção pelo parasito em animais de zoológicos e demais centros de animais silvestres, estes não devem ser alimentados com carne crua fresca, devendo ser feito um congelamento prévio da carne antes de ser fornecida aos animais, pois o consumo de carne congelada apresenta um menor risco de aquisição da infecção do que a carne fresca (Dubey, 2010).

Em um estudo de soroprevalência de infecção realizado em animais de 71 parques zoológicos e 15 centros de reprodução no Brasil, os autores concluíram que a alimentação dos animais com carne congelada a -12°C durante sete dias foi considerada a estratégia mais prática para reduzir a infecção por *T. gondii* nos animais (Silva et al., 2007). Apesar dos cistos teciduais de *T. gondii* serem inviabilizados a -12°C (Kotula et al., 1991), as temperaturas internas em congeladores variam, tendo algumas carnes apresentado uma temperatura interna de apenas -2°C (de Camps et al., 2008). Portanto, a recomendação do congelamento da carne durante uma semana antes de ser fornecida aos felinos parece prudente. Deve-se optar, de preferência, por carne de bovino, pois a probabilidade de conter cistos do parasito é menor quando comparada com a carne de cavalo, de suíno ou de ovino (Dubey, 2010).

É aconselhável manter a maior distância possível entre os felinos silvestres e eventos que expõem as espécies animais mais suscetíveis o que pode acarretar implicações importantes para a gestão de organizações que mantêm esses

animais. Assim, instituições que mantêm felídeos perto de espécies sensíveis devem praticar uma higiene rigorosa e evitar alimentar os felinos com carne crua fresca. O manejo diário deve evitar a contaminação cruzada entre esses recintos, priorizando que a rotina do manejo do ambiente dos primatas não humanos e marsupiais sejam realizados antes do manejo dos felinos. Outra possibilidade é a de haver tratadores específicos para estes setores. Deve ser feito um controle do acesso a felinos errantes nos zoológicos (Epiphonio et al., 2000; Spencer et al., 2004; Dubey, 2010; *European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians EAZWV*, 2012).

Deve ser realizado um controle de vetores mecânicos, uso de utensílios exclusivos para cada recinto, higienização e desinfecção dos recintos e equipamentos de proteção individuais não descartáveis e troca de substrato no caso de mudança de animais de um recinto para outro, limpeza diária dos recintos de modo a evitar a esporulação dos oocistos e incineração das fezes (principalmente as dos felinos). Para tal, os trabalhadores devem estar protegidos por um vestuário de proteção adequado Equipamento de Proteção Individual, incluindo blusas de manga comprida, calça comprida, botas, luvas e máscaras e os equipamentos utilizados para limpar os recintos dos felinos, bem como outros materiais potencialmente contaminados, devem ser autoclavados ou submetidos ao aquecimento a 70°C durante pelo menos dez minutos (Dubey, 1994; Voltaire et al., 2005; Dubey, 2010).

1.2.12. Vacinação

O desenvolvimento de vacinas para prevenir a eliminação de oocistos está em curso, sendo a maioria vacinas atenuadas. Existem algumas desvantagens para este tipo de vacina, incluindo a sua limitada vida útil e o risco de infecção para os seres humanos que as manuseiam (CDC, 2019). Além disso, essas vacinas podem ser letais para os marsupiais australianos (Lynch et al., 1993). O fato das vacinas vivas necessitarem ser congeladas é outra desvantagem na prevenção da infecção por meio de vacinação dos gatos (Dubey, 1996).

Outros objetivos da vacinação incluem a redução do número de cistos em animais para consumo, a proteção contra a toxoplasmose congênita e a diminuição dos danos fetais (Dubey, 1994). A Toxovax® é uma vacina viva constituída por taquizoítos da estirpe atenuada S48, originalmente desenvolvida

para uso em ovinos para diminuir a formação de cistos teciduais e danos fetais, mas, quando utilizada por via oral em gatos, inibe o desenvolvimento sexual de *T. gondii*, e posterior eliminação de oocistos (CDC, 2019).

Uma vacina contendo bradizoítos da linhagem mutante T-263 de *T. gondii* foi concebida para prevenir a eliminação de oocistos por gatos, bloqueando o ciclo sexual do parasito após administração oral (CDC, 2019). Os ensaios de campo com esta vacina foram realizados em criações de suínos nos EUA. Após a vacinação dos gatos residentes nas instalações, a soroprevalência de *T. gondii* na criação de suínos diminuiu, sugerindo menor contaminação ambiental com oocistos, e, portanto, menor risco de infecção para os suínos (CDC, 2019; Innes et al., 2009).

Há relatos de tentativas de vacinação de gatos usando estirpes modificadas de *T. gondii* por irradiação, tratamentos químicos, antígenos recombinantes selecionados e novos veículos, incluindo o herpes vírus felino tipo 1. Todas estas vacinas fornecem um nível de imunidade para gatos. No entanto, ainda há a necessidade de produzir uma vacina inativada ou recombinante, capaz de induzir imunidade humoral, de forma semelhante à imunidade adquirida por indivíduos imunocompetentes sujeitos a infecção natural (Montoya e Liesenfeld, 2004; Dubey, 2010).

Em um estudo, o problema da vacinação de felinos domésticos e silvestres é abordado por meio da utilização de uma vacina recombinante de herpes vírus felino que estimula a produção de anticorpos que atuam também contra o protozoário *T. gondii*, reduzindo a contaminação ambiental, apresentando uma potencial aplicabilidade em zoológicos (Mishima et al., 2002).

Atualmente, na ausência de uma vacina eficaz no controle e prevenção da infecção em humanos, gatos e espécies domésticas e silvestres, a prevenção da transmissão zoonótica por meio de boas práticas de higiene pode ser a melhor forma de controlar o problema da toxoplasmose ao limitar a exposição aos oocistos ou cistos teciduais (Wolf, 2003; Dubey e Jones, 2008; Elmore et al., 2010).

Na atualidade a única vacina disponível é uma preparação viva produzida comercialmente para ovelhas, atualmente com licença para uso em alguns países como: Grã-Bretanha, Irlanda, França, Portugal, Espanha e Nova Zelândia. Consiste no cultivo de tecido desenvolvendo taquizoítos de *T. gondii*

S46 atenuados. A vacina estimula a imunidade protetora pelo menos por 18 meses (OIE, 2017; Innes, 2018).

1.3. JUSTIFICATIVA

A toxoplasmose em animais silvestres cativos é um problema tanto na medicina veterinária quanto na saúde pública. Raramente, os animais silvestres com toxoplasmose apresentam sinais da doença embora várias espécies de animais silvestres sejam sensíveis à infecção como é o caso dos animais neotropicais, entre os quais destacam-se os primatas não humanos.

O presente estudo foi proposto devido às escassas informações existentes na literatura referente à infecção de *Toxoplasma gondii* em animais silvestres cativos. Outro ponto relevante para o desenvolvimento desta pesquisa foi a avaliação do risco da infecção por *T. gondii* nesses animais e em trabalhadores de zoológicos ocupacionalmente expostos. Cabe ressaltar que este tipo de estudo é pioneiro, uma vez que, não são encontrados na literatura relatos sobre a infecção toxoplásmica nos zoológicos de Cuba e do Rio de Janeiro.

Diante dos problemas expostos, foram elaboradas as seguintes hipóteses:

Hipótese 1:

-A presença de sororreagentes anti-*Toxoplasma gondii* nos ungulados, carnívoros, primatas e trabalhadores com risco ocupacional está associada à existência de fatores de risco favoráveis a que ocorra esta zoonose.

Hipótese 2:

-A percepção de risco dos trabalhadores poderia reduzir a presença de indivíduos sororreagentes para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* nos zoológicos de Havana e do Rio de Janeiro.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ungulados, primatas não humanos, carnívoros e profissionais em risco ocupacional no Parque Zoológico Nacional de Cuba (PZN) e do Zoológico do Rio de Janeiro (RIOZOO) e os fatores de risco associados.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nos animais cativos do PZN e do RIOZOO.
2. Descrever o manejo sanitário, nutricional e a presença de outros animais que circulam livremente nos zoológicos, que possivelmente sirvam como fatores de risco nos animais cativos.
3. Detectar oocistos com morfologia similar a *T. gondii* em felinos silvestres cativos.
4. Comparar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* entre os trabalhadores com risco ocupacional do PZN e do RIOZOO.
5. Avaliar a percepção de risco, a competência profissional e os principais fatores de risco dos trabalhadores do PZN e do RIOZOO.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Delineamento do estudo e população estudada

De abril de 2015 a junho de 2018 foi realizado um estudo observacional, transversal dividido em duas etapas, para determinar a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ungulados, primatas, carnívoros e em profissionais no Parque Zoológico Nacional de Cuba (PZN) e do Zoológico do Rio de Janeiro (RIOZOO), bem como os fatores de risco associados à infecção pelo protozoário.

Durante a primeira etapa do estudo os trabalhadores dos Zoológicos, incluindo os tratadores de animais como médicos veterinários e técnicos, bem como biólogos foram sensibilizados a participar da pesquisa. Aqueles que aceitaram participar e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram recrutados (Apêndice 1). Os participantes da pesquisa preencheram um questionário cujas perguntas estavam de acordo com atividades que desenvolviam no zoológico (Apêndice 2, 3, 4) e foi realizada a coleta de material biológico (sangue) para determinar a presença ou não de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Foram excluídos aqueles trabalhadores que se recusaram a participar da pesquisa ou que trabalhavam em outras áreas e não tinham contato com os animais ou seus derivados.

As perguntas do questionário foram lidas em voz alta e cada participante respondeu seu questionário na presença dos pesquisadores, para que fosse possível sanar quaisquer dúvidas.

A segunda etapa do estudo corresponde à relacionada com os animais. Foram incluídos na pesquisa animais: ungulados, primatas e carnívoros do PZN e do RIOZOO. Foram coletadas amostras de material biológico (sangue de todas as ordens e fezes dos felídeos). Nesta etapa foram coletadas também as amostras dos gatos domésticos soltos nos zoológicos (sangue e fezes), dos cavalos (*Equus caballus*) que servem de alimentação aos carnívoros do PZN (sangue) e amostras dos pato-do-mato (*Carina moschata*) que estão livres no RIOZOO (sangue).

3.2. Considerações Éticas

Este projeto foi submetido para apreciação ética ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, sendo aprovado com número de CAAE 49773215.7.0000.5248. O documento do parecer consubstanciado do

CEP está em Anexo 1. Para redução de risco aos indivíduos participantes da pesquisa foram tomadas medidas de proteção para manter o sigilo, tais como: todos os dados foram armazenados sem revelar o nome ou qualquer outro tipo de identificação do indivíduo.

Para a pesquisa em animais tivemos a permissão dos diretores dos dois zoológicos (Anexo 2 e 3). Além disso, o projeto foi aprovado pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), sob o número 54797-1 Anexo 4. Também o projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/ IOC, sob o número de licença L-045/2016 e licença aditiva LA-011/2017, Anexo 5.

3.3. Caracterização dos locais de estudo e coleta das amostras

3.3.1. Parque Zoológico Nacional de Cuba

O Parque Zoológico Nacional de Cuba (Figura 7) possui em seu acervo cerca de 1.046 animais silvestres (répteis, aves e mamíferos) pertencentes a 121 espécies com um total de 340 hectares. O zoológico está situado na zona centro-sul, periferia da província de Havana. É considerado o único de seu tipo no país, com animais em sistema de semicativeiro (animais que estão em aparente liberdade) e cativeiro (confinados), ou seja, totalmente confinados (Figura 8). Além disso, o zoológico estimula a interação dos visitantes com os filhotes de algumas espécies como: leão, crocodilo e serpentes (Figura 8F).

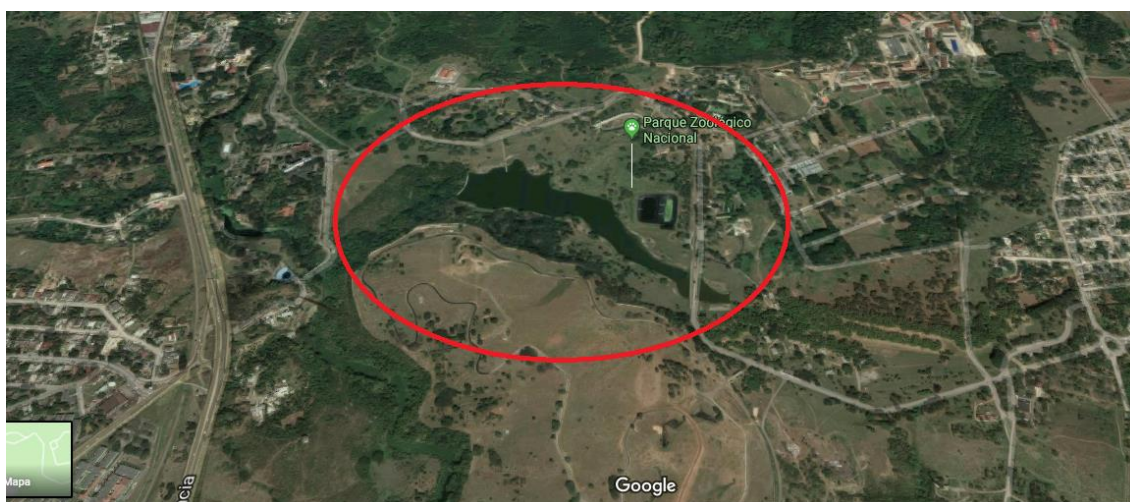


Figura 7. Localização do Parque Zoológico Nacional de Cuba (*Google Earth*, 2018).

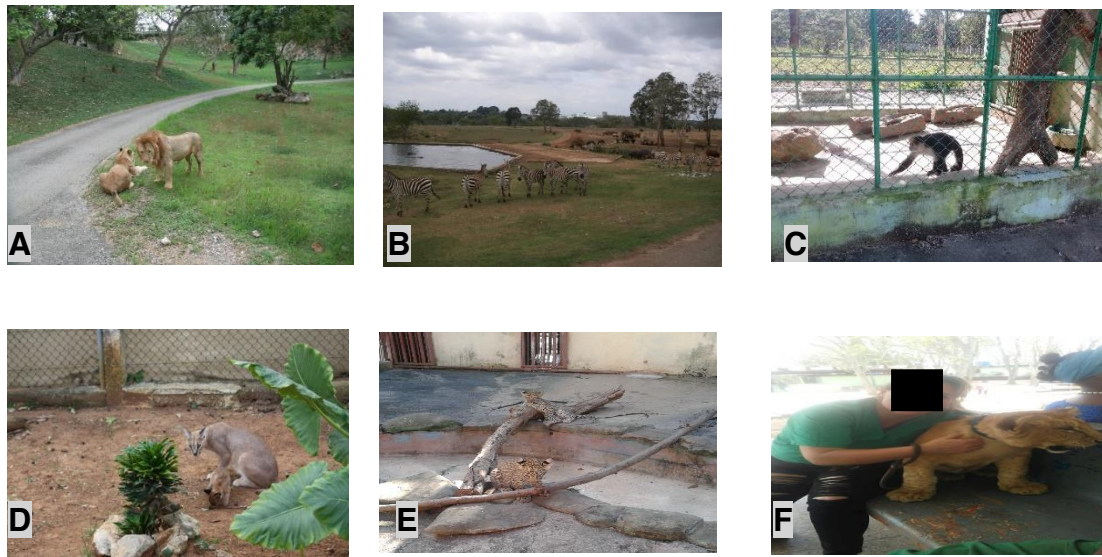


Figura 8. Ilustração das diferentes áreas e recintos do Parque Zoológico Nacional de Cuba onde ficam os animais. A- Fosso dos leões. B- Pradeira Africana. C- Áreas dos Primatas. D; E- Área dos Carnívoros. F- Visitantes tirando fotos com animais. Fonte: do autor.

Foi coletado um total de 110 amostras de sangue (42 carnívoros, 32 primatas não humanos e 36 ungulados silvestres). O Quadro 3, mostra a distribuição por famílias e espécies que foram incluídas no estudo. A pesquisa incluiu a coleta de 40 amostras fecais dos felídeos silvestres. Além disso a pesquisa inclui a coleta de sangue e fezes de 7 gatos domésticos que estavam soltos nas dependências do Zoológico e 10 amostras de sangue dos cavalos (*Equus caballus*) que são abatidos no próprio zoológico para a alimentação dos carnívoros.

Quadro 3. Distribuição das espécies que foram incluídas no estudo do Parque Zoológico Nacional de Cuba.

Orden	Família	Nome comum	Nome científico
Primate	Cercopithecidae	Babuíno-anúbis	<i>Papio anubis</i> (5)
		Babuíno-sagrado	<i>Papio hamadryas</i> (6)
		Macaco rhesus	<i>Macaca mulatta</i> (7)
		Macaco-cinamolgo	<i>Macaca fascicularis</i> (4)
		Mandrill	<i>Mandrillus sphinx</i> (1)
		Macaco-verde	<i>Chlorocebus sabaues</i> (2)
	Cebidae	Prego-de-cabeça-branca panamense	<i>Cebus capucinus</i> (1)
		Macaco-prego	<i>Sapajus apella</i> (2)
	Hominidae	Chimpanzé	<i>Pan troglodytes</i> (4)
Carnívoro	Felidae	Tigre de Bengala	<i>Panthera tigris tigris</i> (1)
		Leão africano	<i>Panthera leo</i> (18)
		Suçuarana	<i>Puma concolor</i> (2)
	Canidae	Coiole	<i>Canis letrans</i> (1)
		Chacal-de-dorso-negro	<i>Canis mesomelas</i> (1)
		Lobo canadense	<i>Canis lupus</i> (1)
	Hyaenidae	Hiena-listrada	<i>Hyaena hyaena</i> (11)
		Hiena-pintada	<i>Crocuta crocuta</i> (3)
	Procyonidae	Coatí	<i>Nasua narica</i> (4)
	Artiodactyla	Camelidae	Dromedário
Bovidae		Antílope-azul	<i>Boselaphus tragocamelus</i> (3)
		Mouflão	<i>Ovis orientalis musimon</i> (3)
		Elande	<i>Taurotragus oryx</i> (3)
		Órix-de-cimitarra	<i>Oryx dammah</i> (1)
		Antílope-negro	<i>Antelope cervicapra</i> (4)
		Ankole-Watusi	<i>Bos tauro watusi</i> (5)
Giraffidae		Girafa	<i>Giraffa camelopardalis</i> (1)
Perisodactyla	Equidae	Zebra-de-Grevy	<i>Equus grevy</i> (5)
		Zebra-de-Grant	<i>Equus burchelli</i> (11)

Legenda: número de animais investigados entre parênteses.



Figura 10. Ilustração das diferentes áreas e recintos do Zoológico do Rio de Janeiro onde ficam os animais. A- Recinto Macaco Aranha. B- Recinto Tigre de Bengala. C- Recinto Lobo guará. D- Recinto cervos. E- Visitantes no Viveirão. Fonte: do autor.

O total de amostras de sangue coletada foi de 162 (26 carnívoros, 113 primatas não humanos, 21 ungulados). O Quadro 4, mostra a distribuição por famílias e espécies. Foram coletadas 12 amostras fecais de felídeos silvestres. Para realizar o estudo relacionado aos fatores de risco no RIOZOO, foram coletadas também 67 amostras de sangue dos patos-do-mato (*Carina moschata*), que vivem livremente no zoológico e 10 amostras de sangue e fezes dos gatos

Quadro 4. Distribuição das espécies que foram incluídas no estudo do Zoológico do Rio Janeiro.

Orden	Família	Nome comum	Nome científico	
Primate	Cercopithecidae	Babuíno-anúbis	<i>Papio anubis</i> (1)	
		Babuíno-sagrado	<i>Papio hamadryas</i> (2)	
		Babuíno-da-Guiné	<i>Papio papio</i> (1)	
		Babuíno-amarelo	<i>Papio cynocephalus</i> (1)	
		Macaco rhesus	<i>Macaca mulatta</i> (1)	
		Macaco-cinamolgo	<i>Macaca fascicularis</i> (2)	
		Macaco-japonês	<i>Macaca fuscata</i> (1)	
		Macaco-rabo-de-porco	<i>Macaca nemestrina</i> (1)	
		Mandril	<i>Mandrillus sphinx</i> (1)	
		Macaco-verde	<i>Cercopithecus pygerythrus</i> (2)	
	Cebidae	Cairara	<i>Cebus albifrons</i> (6)	
		Macaco-prego	<i>Sapajus apella</i> (15)	
		Macaco-prego-de-peito-amarelo	<i>Sapajus xanthosternos</i> (19)	
		Macaco-prego-de-crista	<i>Sapajus robustus</i> (5)	
		Macaco-prego-dourado	<i>Sapajus flavius</i> (2)	
		Caiarara	<i>Cebus kaapori</i> (1)	
	Atelidae	Macaco-loiro	<i>Alouatta seniculus</i> (3)	
		Macaco-aranha	<i>Ateles paniscus</i> (1)	
	Aotidae	Macaco-da-noite	<i>Aotus azarai</i> (5)	
	Pitheciidae	Zogue-zogue	<i>Callicebus brunneus</i> (1)	
		Cuxiú	<i>Chiropotes utahickae</i> (2)	
		Macaco-preguiça	<i>Pithecia irrorata</i> (4)	
	Hominidae	Chimpanzé	<i>Pan troglodytes</i> (1)	
Carnívoro	Felidae	Tigre de Bengala	<i>Panthera tigris tigris</i> (2)	
		Tigre Siberiano	<i>Panthera tigris altaica</i> (1)	
		Jaguaririca	<i>Leopardus pardalis</i> (2)	
		Gato-do-mato	<i>Leopardus tigrinus</i> (4)	
		Leão africano	<i>Panthera leo</i> (3)	
		Onça	<i>Panthera onca</i> (1)	
		Jaguarundi	<i>Puma Yaguarundi</i> (1)	
		Suçuarana	<i>Puma concolor</i> (2)	
	Canidae	Cachorro-do-mato	<i>Cerdocyon thous</i> (3)	
		Lobo guará	<i>Chrysocyon brachyurus</i> (3)	
	Procyonidae	Coatí	<i>Nasua nasua</i> (4)	
	Artiodactyla	Cervidae	Antílope-azul	<i>Rusa unicolor</i> (10)
			Cateto	<i>Pecari tajacu</i> (10)
Queixada			<i>Tayassu pecari</i> (1)	

Legenda: número de animais investigados entre parênteses.

3.3.3. Coleta das amostras de sangue dos animais

Para fins de amostragem, optou-se por coletar sangue de todos os animais que fossem capturados para manejo veterinário, animais que foram transferidos para outros zoológicos ou outras áreas dentro do próprio zoológico, sendo excluídas as fêmeas prenhas, animais senis e recém-nascidos. As coletas de sangue foram realizadas pelos médicos veterinários de cada zoológico, levando em consideração a idade e o tamanho do animal.

Os materiais utilizados para realizar a contenção variaram entre as diferentes famílias e consideraram-se as recomendações dos especialistas no assunto. Os métodos e materiais para o manejo e a contenção estão descritos no Quadro 5.

Quadro 5. Materiais utilizados segundo tipo de contenção dos animais pesquisados.

Tipo de contenção	Famílias de animais	Materiais	Fonte
Física	Primatas	Puça, redes e laços fixos	Nunes <i>et al.</i> (2007)
	Cebidae		
	Cercopithecidae (fêmeas)		
	Carnívoros		
	Canidae		
	Procyonidae		
	Ungulados		
	Camelidae		
Giraffidae			
Química	Primatas	Cloridrato de Cetamina + Cloridrato de Xilazina Cloridrato de Cetamina + Medetomidine Zoletil + Medetomidine Etorfina + Azaperone	Fowler (1995); West <i>et al.</i> (2007); Kreeger e Arnemo (2012); Melterzer e Burroughs (2006)
	Cercopithecidae		
	Hominidae		
	Carnívoros		
	Felidae		
	Hyaenidae		
	Ungulados		
	Bovidae		
Equidae			

As doses dos anestésicos para a contenção dos animais estão apresentadas no Quadro 6.

Quadro 6. Doses dos anestésicos utilizados na contenção dos animais silvestres pesquisados.

Família	Combinações de sedantes	Doses (mg/kg) segundo a espécie
Cercopithecidae	Cloridrato de Cetamina	5 – 15
	Cloridrato de Xilazina	0,5 – 1
Hominidae	Cloridrato de Cetamina	5 – 15
	Cloridrato de Xilazina	0,5 – 1
Felidae	Cloridrato de Cetamina	10 – 20
	Cloridrato de Xilazina	1 – 2
	Cloridrato de Cetamina	10 – 20
	Medetonidine	0,03 – 0,06
	Zoletil	10
	Medetonidine	0,03
Hyaenidae	Cloridrato de Cetamina	10
	Cloridrato de Xilazina	1
	Cloridrato de Cetamina	10
	Medetonidine	0,02
	Zoletil	10
	Medetonidine	0,02
Bovidae	M ₉₉ (Etorfina)	0,02 – 0,05
	Azaperona	0,2
	M ₉₉ (Etorfina)	0,02 – 0,03
	Cloridrato de Xilazina	0,06 – 0,4
Equidae	M ₉₉ (Etorfina)	0,04
	Azaperona	0,25
	Inmobilón (Etorfina)	0,07

Na coleta de todas as amostras de sangue, as vias de venopunção utilizadas corresponderam às veias jugulares, cefálicas, femorais e caudais dependendo da espécie, utilizando-se seringas de 3 a 5 mL, com agulha de 25x7 mm. O volume de sangue coletado foi de até 1% do peso vivo de cada animal.

Para avaliar os fatores de risco foram estudados um total de 17 gatos domésticos (10 do RIOZOO e 7 do PZN) que estavam soltos nas áreas de armazenamento de alimentos destinado aos animais e também nas áreas comuns com os animais silvestres e visitantes. Os gatos foram sedados com uma combinação de Cetamina (10 mg/kg – Vetaset®; Lab. Fort Dodge Saúde Animal Ltda) e xylazina (2 mg/kg – Rompun®; Lab. Bayer S/A). A quantidade de sangue coletada foi 3 mL de cada animal por meio de punção da veia jugular ou femoral. Também no RIOZOO foram coletadas 67 amostras de sangue de pato-do-mato (*Carina moschata*), que viviam livremente no zoológico. Para a coleta de sangue dos patos foi feita contenção física, sendo ao total obtido 2 mL de sangue de cada animal da veia braquial. Além disso, no PZN foi realizada a coleta de sangue de 10 cavalos (*Equus caballus*), que são abatidos no próprio zoológico. Também a contenção destes animais foi física e a quantidade de sangue coletada foi 8 mL da veia jugular.

Em seguida, essas amostras foram transferidas para tubos estéreis de coleta sem anticoagulante para a extração do soro, sendo identificadas: (espécie, número do *chip* ou nome do animal, sexo, data de coleta). Posteriormente foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. O soro foi armazenado em microtubos *ependorfs* com capacidade 1,5 mL e congelado sob a temperatura de -20°C até o momento da realização das técnicas sorológicas, quando foram descongelados e mantidas em temperatura ambiente.

Para realizar a análise das amostras de sangue dos animais do Parque Zoológico Nacional de Cuba e nos animais do RIOZOO as mesmas foram transferidas para o Centro Nacional para a Produção de Animais de Laboratório em Cuba (CENPALAB) usando “*gelo*” para manter a temperatura refrigerada.

3.3.3.1. Técnicas laboratoriais realizadas para as análises das amostras de sangue dos animais

Para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ungulados, primatas não humanos e carnívoros foi utilizado o método ELISA de inibição (ELISA/i), segundo Grandía *et al.* (2013b). Este método pode ser utilizado seja usado para o diagnóstico de *Toxoplasma gondii* em qualquer espécie animal.

O princípio e protocolo de ELISA de inibição (ELISA/i) de acordo com Grandía *et al.* (2013b), estão apresentados na Figura 11. O conjugado utilizado para realizar a técnica foi IgG anti-*Toxoplasma* policlonal.

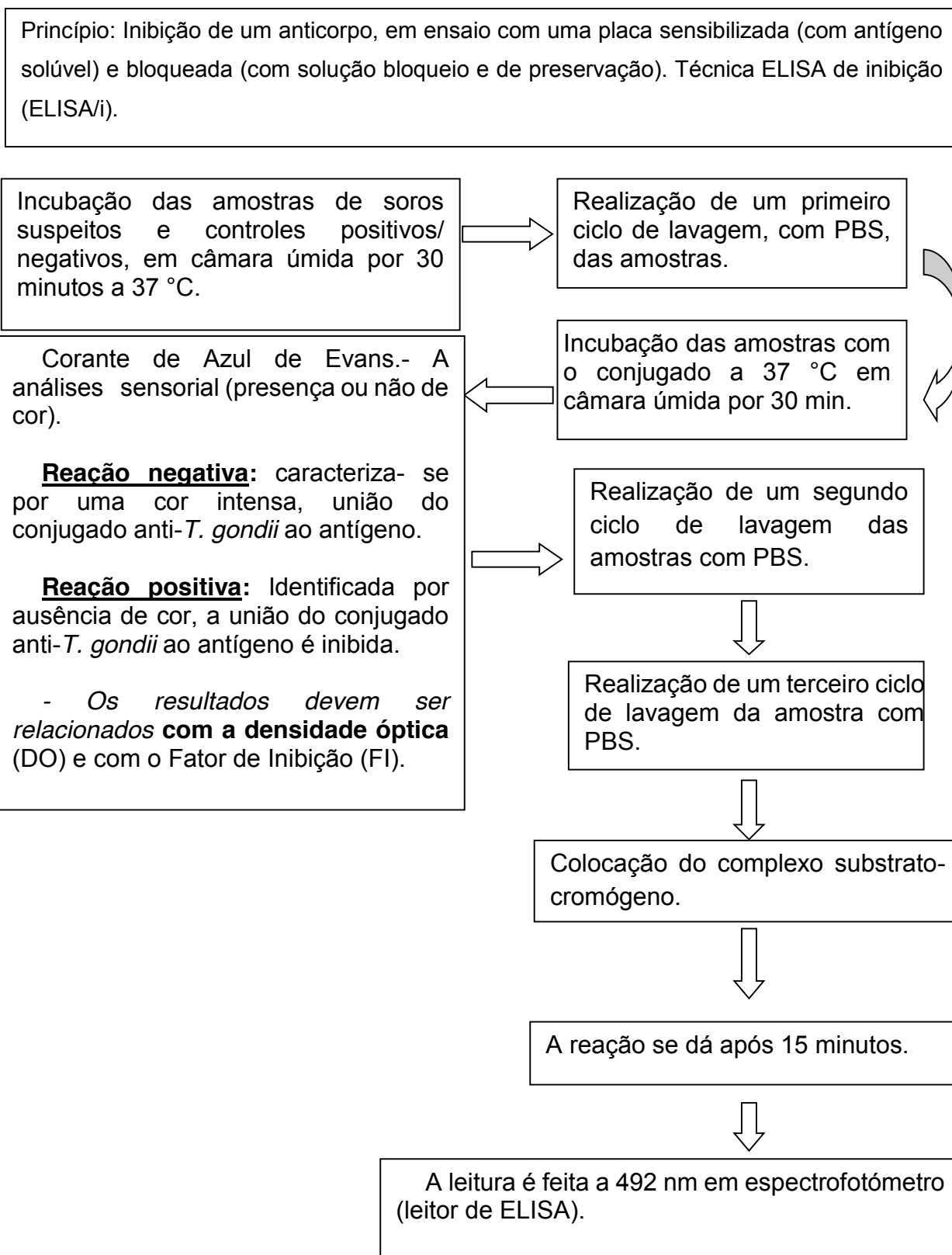


Figura 11. Protocolo resumido da técnica de ELISA de inibição (ELISA/i), segundo Grandía *et al.* 2013b.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro (leitor de ELISA), densidade óptica a 492 nm. As reações foram interpretadas assim:

- Reação negativa: Caracterizado pela cor intensa, indicando que o conjugado anti-*T. gondii* ligou-se ao Ag, devido à ausência de Ac específicos na amostra. Menor do que 1/32.
- Reação Positiva: Identificados pela ausência de cor, indicando que a ligação do conjugado anti-*T. gondii* ao Ag foi inibida pelos Ac na amostra. Maior ou igual a 1/32.

A interpretação dos resultados é mostrada no Quadro 7:

Quadro 7. Interpretação dos resultados de títulos de anti- *T. gondii* pelo método de ELISA/i.

Títulos baixos	~ 1/32 a 1/64
Títulos médios	1/128 a 1/256
Títulos altos	~ superior 1/256
Negativos	< 1/32

No nosso ponto de corte, foram considerados positivo os títulos ~ 1/32 a 1/64

As amostras dos animais do RIOZOO foram submetidas também ao teste de aglutinação modificado (MAT) no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, SP, utilizando como ponto de corte título de 16 segundo Marujo et al. (2017). Só foi realizada esta técnica nas amostras dos animais do RIOZOO, porque as amostras de Cuba já tinham sido descartadas previamente.

Abaixo segue fluxograma resumindo a metodologia empregada para análise do teste do MAT das amostras (Figura 12).

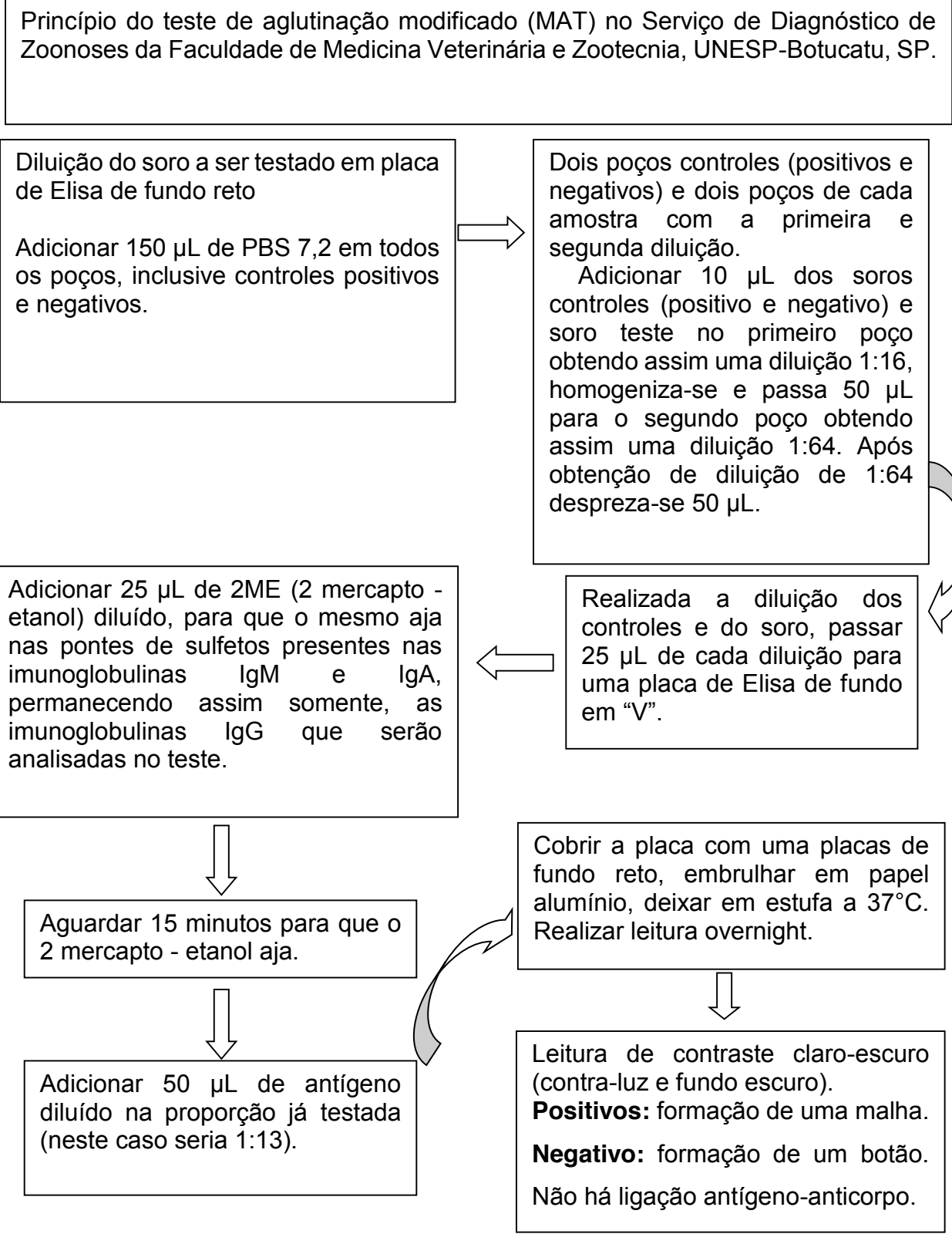


Figura 12. Protocolo resumido do teste de aglutinação modificado (MAT) no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, SP. Fonte: do autor (Adaptado –Dr. Hélio Langoni).

A estimativa de prevalência foi realizada dividindo o número de amostras positivas pelo número total de amostras coletadas de cada grupo de animais estudados. Foi utilizado o teste estatístico de Qui quadrado (χ^2) com o programa estatístico SPSS (versão 18, SPSS® Inc., Chicago, IL, 1999) com nível de significância de 5%, para comparar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* entre os Zoológicos.

Foram utilizadas as seguintes variáveis epidemiológicas para análise estatística:

- Sexo: fêmeas e machos
- Faixa etária: filhote (até 1 ano de idade), jovens (1 a 2 anos de idade), adultos (mais de 2 anos). Como foram estudadas diferentes espécies foi preciso estabelecer faixas etárias que contemplassem todas as espécies.
- Tempo no zoológico: 1 a 5 anos, 6 a 10 anos e mais de 10 anos de cativeiro no zoológico.
- Nascidos em cativeiro: os animais que não são nascidos em cativeiro são procedentes de resgate, intercâmbios com outros zoológico e doações.

3.3.4. Fatores de risco associados à presença de anticorpos anti- *T. gondii* nos animais silvestres cativos no PZN e no RIOZOO

Foram determinados os fatores de risco e práticas de higiene e de manejo, que visam evitar fatores de risco (Figura 13).

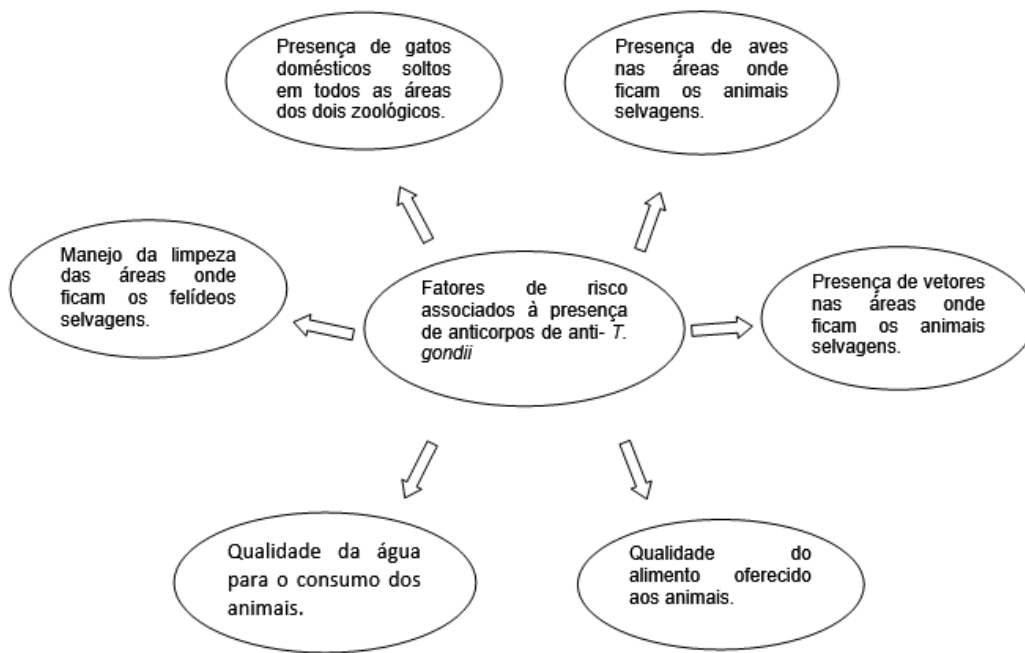


Figura 13. Fatores de risco associados à presença de anticorpos anti- *T. gondii* nos animais silvestres em cativeiros do PZN e do RIOZOO. Fonte: adaptado de Cutler et al. (2010).

3.3.5. Coleta das amostras de fezes dos animais

Foram coletadas um total de 52 amostras de fezes de felídeos silvestres, sendo 40 amostras fecais do Parque Zoológico Nacional de Cuba (Tabela 1) e 12 do Zoológico do Rio de Janeiro (Tabela 2).

Tabela 1. Espécies de felídeos, quantidade de recintos e total de amostras fecais coletadas de animais cativos do Parque Zoológico Nacional de Cuba

Nome científico	Nome comum	Nº de recintos	Nº de animais	Quantidade amostras coletadas
Felidae				
<i>Caracal caracal</i>	Caracal	2	2	2
<i>Panthera tigris tigris</i>	Tigre-de-bengala	2	2	2
<i>Panthera leo</i>	Leão	8	17	17
<i>Panthera onca</i>	Onça pintada	4	5	5
<i>Puma concolor</i>	Suçuarana	5	6	6
<i>Panthera pardus</i>	Leopardo	5	5	5
<i>Acinonyx jubatus</i>	Cheeta	3	3	3
Total		29	40	40

Tabela 2. Espécies de felídeos, quantidade de recintos e total de amostras fecais coletadas de animais cativos do Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil

Nome científico	Nome comum	Nº de recintos	Nº de animais	Quantidade de amostras coletadas
Felidae				
<i>Leopardus tigrinus</i>	Gato-do-mato-pequeno	2	2	2
<i>Leopardus pardalis</i>	Jaguatirica	2	2	2
<i>Panthera tigris altaica</i>	Tigre-siberiano	1	1	1
<i>Panthera tigris tigris</i>	Tigre-de-bengala	2	2	2
<i>Panthera leo</i>	Leão	1	2	2
<i>Panthera onca</i>	Onça pintada	1	1	1
<i>Puma concolor</i>	Suçarana	1	1	1
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	Gato mourisco	1	1	1
Total		11	12	12

As coletas do material fecal foram realizadas diretamente do solo dos recintos onde estavam os animais. O material fecal foi retirado pelos tratadores dos zoológicos, no momento da higienização dos recintos, sendo sempre priorizada a coleta de bolos fecais frescos e individualizados. O total de amostras coletadas foi igual à quantidade de animais alojados em cada recinto. Os bolos fecais foram armazenados em sacos plásticos sem conservante químico, sendo todos acondicionados em recipientes isotérmicos e encaminhados ao Laboratório Nacional de Parasitologia de Cuba (as amostras do PZN) e ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) (as amostras do RIOZOO).

No laboratório, após cadastro das amostras fecais, uma porção de cada uma, foi imediatamente processada pelo exame direto. Outra porção da mesma foi homogeneizada em água destilada, sendo então filtrada em tamiz, com gaze dobrada quatro vezes, e transferida para cálice de fundo cônico. O filtrado foi aliquoteado em tubos de centrífuga de fundo cônico com volume de 15 mL para a realização das técnicas coproparasitológicas qualitativas que seguem abaixo:

- 7 mL em tubo de centrífuga de fundo cônico para realização da técnica de centrífugo sedimentação de Ritchie (1948) modificada por Young (1979);
- 15 mL em tubo de centrífuga de fundo cônico para realização da técnica de centrífugo flutuação de Faust et al. (1938);

- 15 mL em tubo de centrifuga de fundo cônico para realização da técnica de centrífugo flutuação de Sheather (1923) modificada por Huber et al. (2003);
- 15 mL em tubo de centrifuga de fundo cônico que foram armazenados para estoque;
- Uma parte do filtrado foi deixado sedimentar em cálice de fundo cônico por 24 horas para realização da técnica de Lutz (1919).

A leitura das lâminas obtidas de cada técnica e a fotomicrografia foram realizadas no microscópio óptico binocular Olympus® BX 41, inicialmente, em aumento de 100 vezes e, para confirmação, se necessário, em 400 vezes, acoplado a câmera digital Samsung® SDC415 com *software* de captura Honestech® PVR. Para morfometria das formas evolutivas do parasito foi utilizado o microscópio óptico unocular Olympus® BX41 em 400 vezes com uma ocular micrométrica Olympus® SWH.

3.3.5.1. Análises parasitológicas

a) Exame direto

O exame direto foi realizado antes da filtração das amostras, no momento em que as mesmas chegavam ao Laboratório de Parasitologia da UFF. Foi retirada uma pequena porção das fezes de vários pontos tanto da superfície como de partes mais profundas da amostra fecal com auxílio de um bastão de vidro. Esta porção foi colocada em um copo béquer também de vidro. Com uma pipeta tipo Pasteur plástica descartável, cerca de um mL de solução salina tamponada com fosfato estéril foi adicionada ao material fecal [PBS 0,1M pH=7,2 – NaCl P.A (Vetec® 8,18g + Na₂HPO P.A (Dinâmica Reagentes Químicos®) 41,051g + NaH₂PO_a.H₂O P.(Proquímicos®) 0,357g] para a diluição do material. Uma gota do homogeneizado foi transferida para uma lâmina de microscopia sendo em seguida coberta com uma lamínula (24 x 32 mm), procedendo-se a leitura no microscópio primeiramente em aumento de 100 vezes e depois em 400 vezes.

b) Técnica de Ritchie (1948) modificada por Young (1979)

Esta técnica tem como fundamento a centrifugação. Aos tubos plásticos cônicos de centrifugação, contendo sete mL do material fecal filtrado, foi acrescentada uma gota de detergente (Ypê® neutro) e três mL de acetato de etila P.A. (Vetec®). O material foi centrifugado durante dois minutos a 2000 rpm.

Foi desprezado o sobrenadante e acrescentado ao sedimento água destilada até completar o volume de sete mL. Após a homogeneização, o material foi, novamente, centrifugado por dois minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi descartado e com uma pipeta descartável primoutilizada do tipo Pasteur, foi colocada uma gota de água destilada no tubo, procedendo-se a homogeneização. Foi transferida uma gota desse material para uma lâmina de microscopia e adicionada a esta, uma gota de água destilada na lâmina, para facilitar a leitura do material. A lâmina de microscopia foi coberta por uma lamínula (24 x 32 mm), sendo então realizada sua leitura ao microscópio com aumento de 100vezes e 400 vezes.

c) Técnica de Faust et al. (1938)

Essa técnica baseia-se na pesquisa de formas evolutivas de parasitos por centrifugo flutuação com solução de sulfato de zinco. A amostra no tubo plástico de centrífuga de fundo cônico foi submetida à centrifugação por um minuto a 2500 rpm. O sobrenadante foi descartado, sendo acrescentado ao sedimento água destilada até completar 15 mL. O material foi homogeneizado e colocado novamente para centrifugação por um minuto a 2500 rpm. Esse procedimento foi repetido diversas vezes, até que o sobrenadante ficasse limpo. Após a lavagem, o sobrenadante foi descartado, sendo o sedimento suspenso com solução de sulfato de zinco – ZnSO₄.7 H₂O (Vetec®) com densidade de 1,18 g/mL. O material foi homogeneizado e centrifugado por um minuto a 2500 rpm, com o objetivo de formar uma película de flutuação. Em seguida, os tubos foram dispostos, cuidadosamente, em estantes. Utilizando-se uma alça de platina em ângulo de 90 graus, a película de flutuação foi coletada e transferida para lâmina de microscopia, repetindo esse procedimento por quatro vezes. Após as quatro alçadas, foi coberto o material com uma lamínula (22 x 22 mm) para proceder à leitura do material no microscópio com aumento de 100 e 400 vezes.

d) Técnica de Sheather (1923) modificada por Huber et al. (2003)

Essa técnica apresenta como fundamento a centrifugação flutuação em solução de sacarose com densidade de 1,30 g/mL. No laboratório foi transferido 15 mL do filtrado da amostra para tubos cônicos, que foram colocados para centrifugação por 10 minutos a 1500 rpm. Após esse procedimento, os tubos foram dispostos em estantes e foi adicionada solução de sacarose até a

formação de um menisco positivo, sobre o qual foram colocadas as lamínulas (22 x 22 mm), que foram deixadas em repouso por três minutos. Em seguida, as lamínulas foram transferidas, cuidadosamente, e depositadas sobre lâminas de microscopia, procedendo à leitura do material ao microscópio com aumento de 100 e 400 vezes.

e) Técnica de Lutz (1919)

Essa técnica fundamenta-se na sedimentação espontânea das formas evolutivas dos parasitos. Parte do material obtido após a filtração foi depositado em um cálice de fundo cônico com capacidade de 250 mL. Adicionou-se água destilada até complementar o volume do mesmo, que foi coberta com um filme de PVC transparente e mantido em repouso para sedimentação por 24 horas. Após esse período, com uma pipeta descartável do tipo Pasteur primoutilizada, foi coletada uma alíquota do sedimento e transferida uma gota da mesma para uma lâmina de microscopia e coberta com uma lamínula (24 x 32 mm). Posteriormente o material foi encaminhado para leitura no microscópio com aumento de 100 e 400 vezes.

3.3.6. Coleta das amostras de sangue dos trabalhadores com risco ocupacional e avaliação da percepção de risco e competência profissional

Nesta parte do estudo, participaram um total de 133 de trabalhadores, 79 (65,83 %) do Parque Zoológico Nacional de Cuba e 54 (100%) do Zoológico do Rio de Janeiro todos ocupacionalmente sob risco de exposição. Os mesmos foram agrupados segundo diferentes indicadores (tempo de trabalho, área de trabalho e ocupação).

Foram incluídos no estudo trabalhadores com risco ocupacional (estejam em contato direto com os animais ou com os produtos dos mesmos) do PZN e do RIOZOO. Os participantes eram maiores de 18 anos e de ambos os sexos.

Para determinar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* foi realizada a coleta de sangue dos trabalhadores. A coleta de sangue foi realizada com material estéril, por profissional de saúde capacitado, veia braquial. O volume de sangue coletado foi de 3 a 5 mL.

Para a obtenção do soro o sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 min. As amostras foram analisadas no Laboratório de Toxoplasmose do Instituto de

Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK) em Cuba e no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozoonoses do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, RJ, Brasil. Para a detecção dos anticorpos anti-*T. gondii* foram utilizadas as técnicas de ELISA e RIFI. O método de ELISA foi validado no IPK segundo a técnica realizada por Eaton *et al.* (1996) e modificada por Lappalainen e Hedman, (2004).

O princípio de determinação é baseado no método imunoenzimático de imunocaptura com uma detecção final por fluorescência (ELFA). O sistema efetua duas leituras de fluorescência para cada determinação.

Posteriormente foi calculado o Valor Relativo de Fluorescência (RFV), que é o resultado da diferença entre as duas leituras. A interpretação dos resultados de ELISA está apresentada na Quadro 8.

Quadro 8. Interpretação dos resultados a títulos de anti- *T. gondii* pelo método de ELISA.

TOXO IgG pelo Método ELISA		TOXO IgM pelo Método ELISA	
Título	Interpretação	Índice	Interpretação
< 4	Negativo	$i < 0,55$	Negativo
$4 \leq \text{título} < 8$	Duvidoso	$0,55 \leq i < 0,65$ (*)	Duvidoso
≥ 8	Positivo	$i \geq 0,65$	Positivo

Legenda:(*) Para os índices que estão compreendidos entre 0,55 e 0,65, a técnica foi repetida.

O princípio do protocolo do RIFI segundo Camargo (1974) está representada na Figura 14.

Sequência dos passos a seguir para a realização da técnica de RIFI. Incubação com o conjugado a temperatura de 37 °C por 30 minutos em câmara úmida.

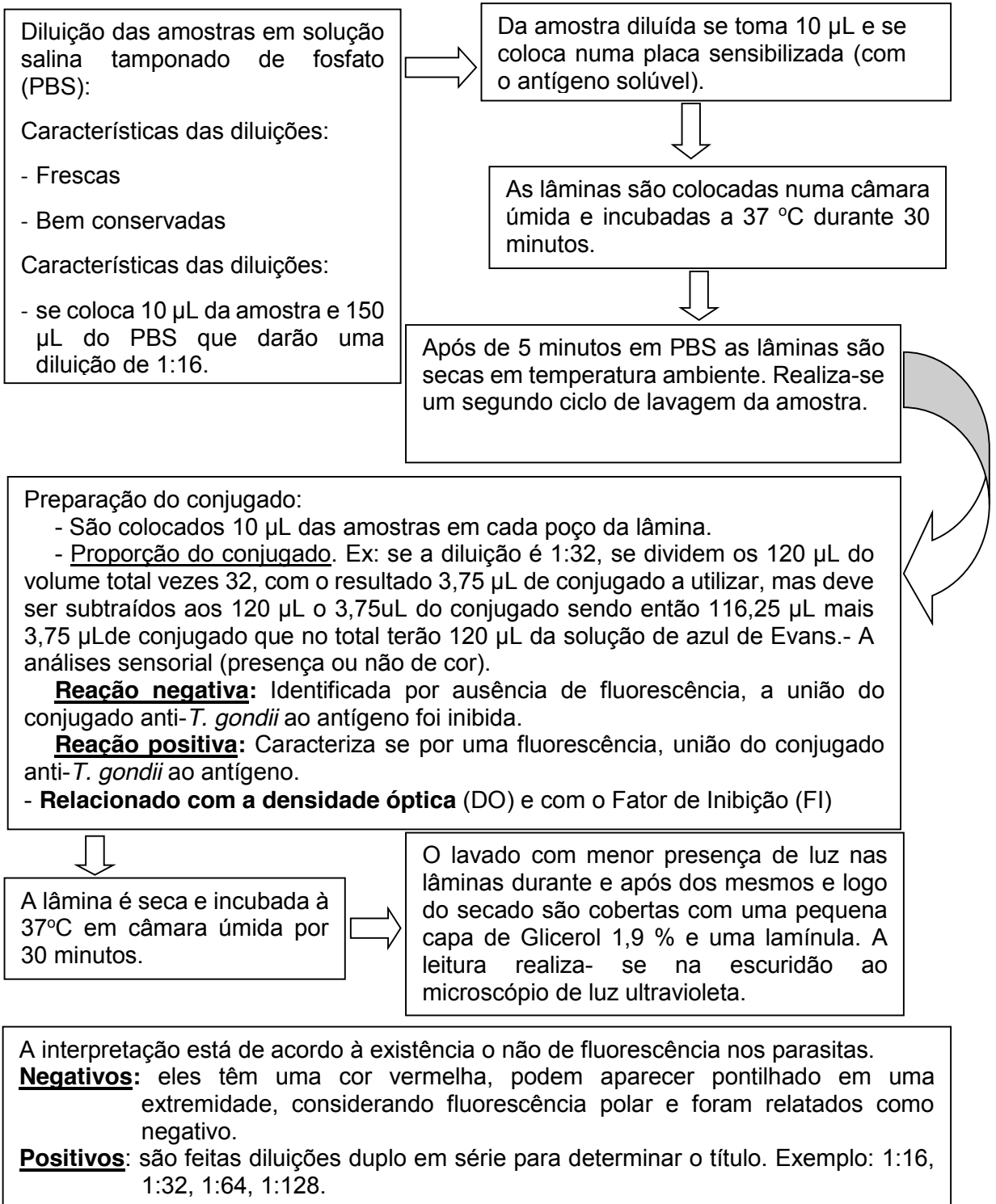


Figura 14. Princípio do protocolo do RIFI no IPK de Cuba e no LabTOXOIOC/Fiocruz.
Fonte: do autor

Para as amostras dos trabalhadores do RIOZOO, utilizaram-se os Kits comerciais:

- BIOLISA TOXOPLASMOSE IgG – utilizando o protocolo segundo o fabricante. Bioclin K127.
- BIOLISA TOXOPLASMOSE IgM – utilizando o protocolo segundo o fabricante. Bioclin K127.

Foi calculada a prevalência segundo a fórmula proposta por Pita et al. (2004)

$$\text{Prevalência pontual} = \text{Ct} / \text{Nt}$$

Onde:

Ct= número de casos existentes no momento da pesquisa.

Nt= número total de indivíduos na população no momento da pesquisa.

Para avaliar a variável percepção de risco e competência profissional foi utilizado o questionário "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associado ao manejo territorial das zoonoses", desenvolvido em Cuba pela Dra. Suárez et al. (2006), pelos mesmos autores em 2008 (Suárez et al. 2006; 2008) (Apêndices 2, 3, 4). A avaliação do questionário foi realizada conforme o descrito abaixo:

- Às perguntas com respostas de SIM ou NÃO, foram outorgados 2, 1 ou 0 pontos para as respostas corretas/abstenções ou em branco/incorretas;
- Às perguntas de opções múltiplas receberam 2, 1 e 0 pontos para as respostas: SEMPRE, ÀS VEZES e NUNCA, respectivamente;
- Ao total de pontos obtidos para cada questionário, foi calculada a amplitude de categoria, dividida pelo total de categorias nominais, atribuindo ao resultado categoria nominal ALTA, MÉDIA E BAIXA para os indicadores avaliados.

Para analisar cada indicador, foram somadas as perguntas que o procedimento metodológico requer (Quadro 9) e se estabeleceram os intervalos de pontuação para cada uma das categorias.

Quadro 9. Qualificação e análise dos questionários, segundo Suárez et al. (2006); (2008).

Grupos pesquisados	Indicador analisado	Perguntas utilizadas	Intervalos de categorias nominais		
			ALTA	MÉDIA	BAIXA
Membros dos Serviços Veterinários de nível superior	Percepção de risco	1, 2	≥ 1	2 – 3	≤ 4
	Competência profissional	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	≥ 12	11 – 6	≤ 5
Trabalhadores de nível superior não veterinário com riscos laborais (Biólogos)	Percepção de risco	1, 2, 3	≥ 5	4 – 3	≤ 2
	Competência profissional	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	≥ 11	10 – 6	≤ 5
Membros dos Serviços Veterinários de nível médio (Técnicos)	Percepção de risco	1, 2, 3, 4, 5	≥ 8	7 – 4	≤ 3
	Competência profissional	6, 7, 8, 9, 10	≥ 8	7 – 4	≤ 3
Pessoal de serviço/tratadores	Percepção de risco	1, 2, 3, 4, 5	≥ 8	7 – 4	≤ 3
	Competência profissional	6, 7, 8, 9, 10	≥ 8	7 – 4	≤ 3

O conceito utilizado para variáveis "percepção de risco" e "competência profissional" seguiu as definições preconizadas por Frederico Peres (2010) e Philippe Zarifian (2001):

Percepção de risco: habilidade de interpretar uma situação de potencial dano à saúde. Deve-se levar em conta que a percepção de risco é baseada em diferentes 'backgrounds' de conhecimento.

Competência profissional: combinação de conhecimentos, de saber-fazer, de experiências e comportamentos que se exerce em um contexto preciso. A competência é "tomar iniciativa" e "assumir responsabilidade" do indivíduo diante de situações profissionais.

3.3.7. Análises estatísticas dos resultados

Os resultados sorológicos e as variáveis epidemiológicas foram analisadas por meio do programa estatístico SPSS (versão 18, SPSS® Inc., Chicago, IL, 1999). Para verificar a associação entre as variáveis categóricas e entre os dois zoológicos, foi realizado o teste de Qui-quadrado (χ^2) de Pearson (com nível de significância de 5%).

Estatística Kappa (k) foi empregada para determinar a concordância do diagnóstico entre as técnicas sorológicas dos animais. O programa SPSS® (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) foi utilizado, sendo considerado o grau de significância de 5%. O índice Kappa foi interpretado conforme mostrado no Quadro 10 (Landis e Koch, 1977).

Quadro 10. Interpretação do índice Kappa

Valores do Kappa	Interpretação
<0	Concordância pobre
0-0.19	Concordância leve
0.20-0.39	Concordância razoável
0.40-0.59	Concordância moderada
0.60-0.79	Concordância substancial
0.80-1.00	Concordância quase perfeita

Foi realizada a prova de χ^2 utilizando-se o software Epidat 3.1 (2006) para buscar a relação entre as variáveis: percepção de risco e competência profissional, empregando-se a percepção de risco como variável independente em cada grupo.

Segundo as respostas dos trabalhadores pesquisados, foram selecionados os principais riscos e a probabilidade de a doença acontecer, considerando os critérios da OIRSA/OIE (2006) para processo de avaliação de risco.

Para a avaliação do grau de concordância entre as técnicas RIFI e ELISA foram utilizados os parâmetros de co-positividade, co-negatividade, concordância bruta e a concordância ajustada (Kappa - K) seguindo as fórmulas do Quadro 11 (Teva et al., 2009).

Quadro 11. Fórmulas para calcular o grau de concordância.

	Presente	Ausente	Total
Positivo	a	b	a+b (p1)
Negativo	c	d	c+d (q1)
Total	a+c (p2)	b+d (q2)	a+b+c+d
Copositividade = a : (a + c) Conegatividade = d : (b + d) $Kappa = [2 (ad + bc) : (p1q2 + p2q1)]$			

Foi utilizado o seguinte critério para conceituar os resultados do controle de qualidade: valores $\leq 40,0\%$ são considerados pobres, de 40,1 até 79,9% regulares, valores $\geq 80,0$ a 89,9% são considerados bons e $\geq 90\%$ são considerados excelentes (Teva et al, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Sorologia dos animais silvestres cativos do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro

Do total de 272 amostras analisadas (110 amostras do PZN e 162 amostras do RIOZOO), 95 amostras dos animais do PZN foram soropositivas para *T. gondii*, o que traduz uma soroprevalência geral de 86,36%. Do total de animais testados no RIOZOO 26,54% das amostras (n=43) foram sororreagentes pela técnica de ELISA/i e 33,95% (n=55) foram sororreagentes pela técnica de MAT.

Para realizar o estudo os animais pesquisados foram agrupados por ordens Tabela 3. No caso dos animais do PZN de Cuba a soroprevalência mais elevada foi nos ungulados (91,67%) seguida dos carnívoros (88,10%) e primatas (78,12%). No RIOZOO também foram os ungulados os que apresentaram uma soroprevalência mais elevada (41,67%), seguida dos primatas (36,28%) sendo os todos carnívoros negativos (0%) pela técnica de ELISA/i e (96,15%) foram negativos pelo MAT. Já pelo MAT a soroprevalência mais elevada foi primatas (43,36%), sendo todos do Novo Mundo, seguida dos ungulados (21,74%).

A alta prevalência de sororreagentes, entre os ungulados, pode ser devido a uma possível contaminação dos alimentos com oocistos eliminados pelos gatos existentes na área de armazenamento e/ou pela presença de outras fontes de infecção, como baratas, formigas, roedores entre outras (Ferreira e Navarro, 1994). Outro fator que poderia estar favorecendo a ocorrência de uma alta prevalência da infecção nestes herbívoros seria a existência de condições climáticas tais como: alta umidade e temperaturas que oscilem entre 25 – 31 °C que favoreciam a evolução dos oocistos (Salomão, 2013), aspecto que estão presentes nas condições climáticas tanto de Cuba como do Rio de Janeiro, Brasil.

No caso dos carnívoros os resultados de soroprevalência estiveram com percentuais bem mais altos 88,10% em Cuba com a técnica de ELISA/i, se compararmos com o referido por Ferreira e Navarro (1994,) que oscilaram entre 25% e 50%, em São Paulo, Brasil, utilizando a MAT, e por Gorman (2010), em uma pesquisa realizada no zoológico de Santiago do Chile, onde a prevalência para os carnívoros foi de 46,6% e no Perú por Navarro et al. (2015) (93,30%)

também com MAT. Deve-se ressaltar que no RIOZOO, tanto na MAT quanto no ELISA/i todos os carnívoros foram não reagentes.

Tabela 3. Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo as ordens

	Faixa de Leitura do ELISA								P valor	Faixa de Leitura do MAT					
	Parque Zoológico Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro					Zoológico do Rio de Janeiro					
Ordem	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)		Negativo (%)	16 (%)	64 (%)	256 (%)	1024 (%)	4096 (%)
Carnívoro	5 (11,90)	29 (69,05)	7 (16,67)	1 (2,38)	26 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	,00	25 (96,15)	1 (3,85)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Primatas	7 (21,88)	9 (28,13)	13 (40,63)	3 (9,38)	72 (63,72)	14 (12,39)	5 (4,42)	22 (19,47)		64 (75,22)	21 (18,58)	5 (4,42)	9 (7,96)	9 (7,96)	5 (4,42)
Ungulados	3 (8,33)	22 (61,11)	7 (19,44)	4 (11,11)	21 (58,33)	0 (0)	2 (8,70)	0 (0)		18 (78,26)	3 (13,04)	2 (8,70)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	15 (13,64)	60 (54,55)	27 (24,55)	8 (7,27)	119 (73,46)	14 (8,64)	7 (4,32)	22 (13,58)		107 (66,05)	25 (15,43)	7 (4,32)	9 (5,56)	9 (5,56)	5 (3,09)

Na atualidade existem poucos estudos relacionando a variáveis como: sexo, grupo etário, tempo no zoológico e se é nascido em cativeiro ou não. Estas variáveis estavam associadas à prevalência de anticorpo anti- *Toxoplasma gondii* nas amostras examinadas, ou seja, quando analisadas as variáveis estudadas, não foi observada diferença estatisticamente significativa $p \geq 0.05$ tanto no PZN quanto no RIOZOO, exceto na variável ter nascido em cativeiro foi associado a chance de ter um resultado reagente, existindo diferenças estatisticamente significativas. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 4, 5, 6, 7.

Tabela 4. Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo sexo

	Faixa de Leitura do ELISA								P valor	Faixa de Leitura do MAT					
	Parque Zoológico Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro					Zoológico do Rio de Janeiro					
Sexo	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)		Negativo (%)	16 (%)	64 (%)	256 (%)	1024 (%)	4096 (%)
Fêmea	9 (19,15)	24 (51,06)	12 (25,53)	2 (4,26)	43 (66,15)	6 (9,23)	4 (6,15)	12 (18,46)	,08	38 (58,46)	10 (15,38)	4 (6,15)	5 (7,69)	5 (7,69)	3 (4,61)
Macho	6 (9,52)	36 (57,14)	15 (23,81)	6 (9,52)	76 (78,35)	8 (8,24)	3 (3,09)	10 (10,31)		69 (71,13)	15 (15,46)	3 (3,09)	4 (4,12)	4 (4,12)	2 (2,06)
Total	15 (13,64)	60 (54,55)	27 (24,55)	8 (7,27)	119 (73,46)	14 (8,64)	7 (4,32)	22 (13,58)		107 (66,05)	25 (15,43)	7 (4,32)	9 (5,56)	9 (5,56)	5 (3,09)

Tabela 5. Soroprevalência anti-*T. gondii* em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo grupo etário

	Faixa de Leitura do ELISA								P valor	Faixa de Leitura do MAT					
	Parque Zoológico Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro					Zoológico do Rio de Janeiro					
Grupo Etário	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)		Negativo (%)	16 (%)	64 (%)	256 (%)	1024 (%)	4096 (%)
Adulto	10 (18,18)	27 (49,09)	15 (27,27)	3 (5,45)	102 (72,86)	10 (7,14)	7 (5)	21 (15)	,06	91 (65)	20 (14,29)	7 (5)	9 (6,43)	8 (5,71)	5 (3,57)
Jovem	5 (9,62)	32 (61,54)	12 (23,08)	3 (5,77)	12 (75)	3 (18,75)	0 (0)	1 (6,25)		11 (68,75)	4 (25)	0 (0)	0 (0)	1 (6,25)	0 (0)
Filhote	0 (0)	1 (33,33)	2 (66,66)	0 (0)	5 (83,33)	1 (16,66)	0 (0)	0 (0)		5 (83,33)	1 (16,66)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	15 (13,64)	60 (54,55)	27 (24,55)	8 (7,27)	119 (73,46)	14 (8,64)	7 (4,32)	22 (13,58)		107 (66,05)	25 (15,43)	7 (4,32)	9 (5,56)	9 (5,56)	5 (3,09)

Tabela 6. Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* em animais pesquisados do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo tempo de permanência no zoológico.

	Faixa de Leitura do ELISA								P valor	Faixa de Leitura do MAT					
	Parque Zoológico Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro					Zoológico do Rio de Janeiro					
Tempo no zoológico (anos)	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)		Negativo (%)	16 (%)	64 (%)	256 (%)	1024 (%)	4096 (%)
De 1 a 5	7 (10,45)	40 (59,70)	18 (26,87)	2 (2,99)	31 (73,81)	4 (9,52)	1 (2,38)	6 (14,29)	,95	28 (66,67)	7 (16,67)	1 (2,38)	4 (9,52)	2 (4,76)	0 (0)
De 6 a 10	5 (21,74)	10 (43,48)	4 (17,39)	4 (17,39)	29 (78,38)	1 (2,70)	2 (5,41)	5 (13,51)		28 (75,68)	2 (5,41)	1 (2,70)	1 (2,70)	3 (8,11)	2 (5,41)
Mais de 10	3 (15)	10 (50)	5 (25)	2 (10)	59 (71,08)	9 (10,84)	4 (4,82)	11 (13,25)		51 (61,45)	16 (19,28)	5 (6,02)	4 (4,82)	4 (4,82)	3 (3,61)
Total	15 (13,64)	60 (54,55)	27 (24,55)	8 (7,27)	119 (73,46)	14 (8,64)	7 (4,32)	22 (13,58)		107 (66,05)	25 (15,43)	7 (4,32)	9 (5,56)	9 (5,56)	5 (3,09)

Tabela 7. Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* em animais do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo se são nascidos o não no zoológico

	Faixa de Leitura do ELISA								P valor	Faixa de Leitura do MAT					
	Parque Zoológico Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro					Zoológico do Rio de Janeiro					
Nascido no zoológico	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)	Negativo (%)	De 1/32 a 1/64 (%)	De 1/128 a 1/256 (%)	Superior a 1/256 (%)		Negativo (%)	16 (%)	64 (%)	256 (%)	1024 (%)	4096 (%)
Sim	12 (11,43)	58 (55,24)	27 (25,71)	8 (7,62)	49 (62,82)	10 (12,82)	6 (7,69)	13 (16,67)	,00	45 (57,69)	14 (17,95)	5 (6,41)	5 (6,41)	6 (7,69)	3 (3,84)
Não	3 (60)	2 (40)	0 (0)	0 (0)	70 (83,33)	4 (4,76)	1 (1,19)	9 (10,71)		62 (73,81)	11 (11,1)	2 (2,38)	4 (4,76)	3 (3,57)	2 (2,38)
Total	15 (13,64)	60 (54,55)	27 (24,55)	8 (7,27)	119 (73,46)	14 (8,64)	7 (4,32)	22 (13,58)		107 (66,05)	25 (15,43)	7 (4,32)	9 (5,56)	9 (5,56)	5 (3,09)

Apesar de não ter encontrado diferenças significativas entre os sexo dos animais estudados outras estudos demonstram a importância de avaliar o sexo como uma das variáveis que poderiam estar atuando como fator de risco, é devido a relatos na literatura de estudos experimentais realizados em cães e em ovinos por Arantes et al. (2009) e Zanetti (2010), respectivamente, nos quais os autores apontam a possível transmissão de *Toxoplasma gondii* pelo sêmen. Ainda que não se tenha relatos sobre esse mecanismo de transmissão em animais naturalmente infectados, não podemos deixar de considerá-los por se tratar de animais em cativeiro.

Sabe-se também que para muitas espécies de animais, como os símios o sexo masculino acaba determinando a dominância de um indivíduo no recinto, quando esses vivem em grupos. Nesses casos os dominantes podem apresentar uma frequência de anticorpos anti – *T. gondii* maior do que os outros, pois exploram mais o ambiente e acabam sendo os primeiros animais a se alimentar da comida que é disposta em seus recintos. Dessa forma esses animais ficam mais expostos.

No entanto, uma fêmea parasitada e sintomática pode ter diminuição do seu *score* corporal, fato que pode prejudicar o desenvolvimento corporal da prole que ainda está lactente. Além disso ainda que seja raro, não se pode descartar a possibilidade do parasito ser transmitido via transmamária, já que pouco se sabe sobre a fisiologia do protozoário nos animais silvestres, principalmente, nas diferentes espécies de felídeos que estavam em ambos os Zoológicos incluídos neste estudo.

Ao analisar os resultados obtidos segundo o grupo etário, tanto no PZN (81,82%), pela ELISA/i quanto no RIOZOO (27,14) pela ELISA/i e (35%) por meio do MAT, pode-se observar maior soroprevalência para anticorpos anti-*T. gondii* nos animais mais velhos. No entantanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa, qe dizer, não houve associação. Resultados inferiores ao observado no PZN e superior ao do RIOZOO foram relatados por Alvarado-Esquivel et al. (2013), cujo o percentual de positivos em adultos foi de 67,7% em um zoológico na Cidade do México e por Marujo et al. (2017) 46,4% no Zoológico de Sorocaba, SP, Brasil. A maior frequência evidenciada nesse grupo de animais já era esperada, uma vez que a maior idade do animal independente da espécie

evidenciado em ambos os Zoológicos pode estar diretamente relacionada ao maior tempo de exposição que estes animais ficaram aos diversos agentes infectantes do parasito, ou seja, contaminação do ambiente por oocistos e principalmente pela ingestão de oocistos na água, verduras e frutas ou de bradizoitos na carne de consumo.

O tempo que os animais estavam mantidos sob cuidados humanos em zoológicos-também foi outra variável que poderia estar atuando como fator de risco para infecção pelo protozoário. No caso dos animais do PZN a maior prevalência foi encontrada entre os animais que estavam entre 1 a 5 anos em cativeiro (59,70%). No RIOZOO a maior prevalência foi encontrada nos animais que estão no zoológico entre 6 a 10 anos (13,51%) e nos que estavam em cativeiro entre 1 a 5 anos (16,67%). Os resultados obtidos nesta pesquisa foram inferiores aos de Navarro et al. (2015), que no Perú utilizando ao MAT, detectaram 88,9% dos animais que estavam no zoológico a mais de 10 anos, 100% dos que estavam de 6 a 10 anos e 81,3% dos animais entre 1 a 5 anos de vida em cativeiro eram sororreagentes. Fica realmente difícil comparar tal variável, uma vez que se o animal silvestre estivesse em vida livre a chance dele se infectar seria ainda maior do que o animal em cativeiro. No entanto, neste estudo foi possível observar que a medida em que o período de manutenção do animal no ambiente dos Zoológicos aumentava a prevalência do parasito também aumentava. Isso mostra que o manejo realizado nesses animais, principalmente a alimentação, bem como o ambiente de ambos os Zoológicos podem estar favorecendo a infecção dos animais silvestres pelo protozoário.

Outro fator que pode ser considerado é o lugar de nascimento dos animais demonstrando que a maior positividade está presente nos animais nascidos em cativeiro no PZN (88,57%) em Cuba, somente cinco animais são provenientes de outros locais. O mesmo não ocorre no RIOZOO onde 37,18% dos animais sororreagentes eram nascidos no zoológico. Este fato pode ser explicado pelo tipo das instalações do PZN que permite maior possibilidade de transmissão do protozoário, uma vez que o sistema de semicativeiro, por ser aberto favorece o contato dos animais com as prováveis fontes de infecção, principalmente, pelos oocistos no solo ou até mesmo a predação de pequenos animais, como roedores e aves que eventualmente podem estar nas áreas.

Em relação à metodologia utilizada observamos que o método de ELISA/i realizado nas amostras do RIOZOO quando comparado ao MAT, observou-se que o valor do índice de concordância Kappa foi de $k= 0,757$, o que foi classificada como concordância substancial e não apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p=0.061$).

4.2. Manejo sanitário, nutricional e a presença de outros animais que circulam livremente nos zoológicos, relacionados com os fatores de risco nos animais cativos

Atualmente, nas instituições que mantêm animais silvestres em cativeiro existem condições que podem incrementar as probabilidades desses animais adquirirem doenças infecciosas sejam elas zoonoses ou não (OIE, 2011). O estresse crônico, situação comum em animais mantidos em cativeiro, pode comprometer o sistema imune e, conseqüentemente, predispor a doenças (Wolf, 2003).

Por isso é importante identificar os fatores de risco associados a zoonoses, nos ambientes onde ficam os animais silvestres, a fim de que se possa incrementar medidas de controle da parasitose naqueles ambientes de cativeiro. Entre essas medidas estão as práticas de higiene e de manejo, que visam evitar os fatores de risco que foram citados na Figura 13, pagina 61, dos materiais e métodos e que serão comentados a seguir.

4.2.1. Presença de aves nas áreas onde ficam os animais silvestres

As aves migratórias percorrem muitos quilômetros, sendo consideradas migrantes intercontinentais, que podem introduzir patógenos através de qualquer fronteira sem controle nenhum (Beldomenico, 2006). Há relatos de isolamento de *T. gondii* em tecidos de um número amplo de espécies aviárias migratórias (Dubey, 2002).

Segundo o estudo feito por Cubillas et al., 2007, foram descritas 129 espécies de aves endêmicas ou migratórias que ficam livres no Parque Zoológico Nacional de Cuba. Destas, aproximadamente 35% das espécies já foram registradas em Cuba, são endêmicas. Nesse inventário 63 espécies são migratórias, representando 48,83% do total. Esta variedade de espécies encontra-se em interação com os animais silvestres semicativos podendo transmitir doenças. Até

o momento, não foi realizada pesquisa de saúde com essas aves que ficam livres por todo o zoológico cubano.

No entanto, já no RIOZOO em 2016 foi feita uma pesquisa dos pato-do-mato soltos no próprio zoológico onde foram pesquisados um total de 67 animais, sendo que 39 (58,21%) apresentavam anticorpos contra *T.gondii*. Foi correlacionada a soropositividade com a idade. Dos patos sorreagentes 73,81% eram adultos e apenas 32% jovens. Este achado demonstra ser a idade um fator de risco. Posto que, quanto mais se vive, maior o período de exposição daquelas aves à provável fonte de infecção (Santos et al., 2017). É importante destacar que a captura, contenção e coleta de sangue de aves silvestres são atividades altamente trabalhosas para os médicos veterinários e estressantes para os animais. Na verdade, tal análise nos patos do RIOZOO só pode ser realizada devido ao interesse e expertise dos médicos veterinários e biólogos dessa Instituição em estudar esses animais. Não pode ser descartada a possibilidade desses patos terem sido predados pelos animais que estão em cativeiro no RIOZOO, principalmente pelos carnívoros como felídeos e onívoros como os canídeos. Dessa forma esses patos, por serem aves errantes podem ser uma das fontes de infecção para esses animais.

4.2.2. Presença de gatos domésticos soltos nas áreas dos zoológicos

Nos gatos errantes do RIOZOO foram detectadas taxas de prevalência para *T. gondii* de 20% (2/10) de amostras positivas e no PZN 14,3% (1/7) dos animais sororreagentes para *T.gondii*. Também foram examinadas fezes dos gatos errantes do RIOZOO e do PZN, na busca de oocistos similares a *T. gondii*. Nas fezes dos gatos de ambos os Zoológicos não foram evidenciados formas evolutivas compatíveis com oocistos de *T. gondii*. No entanto, formas evolutivas de outros parasitos foram detectadas como ovos de ancilostomídeos de ambos os Zoológicos e cápsula ovígera de *Dipylidium caninum* nos gatos errantes do RIOZOO. Mendes-de-Almeida et al. (2007) fizeram uma pesquisa nos anos 2002, 2003 e 2004 analisando um total de 123 amostras de soro de gatos soltos, no RIOZOO. A maioria dos animais pesquisados apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*. As taxas de prevalência foram 92,1%, 63,1% 60,6%, respectivamente. Os felídeos são o ponto-chave da epidemiologia da toxoplasmose, sendo os únicos hospedeiros definitivos, onde ocorre a

reprodução sexuada do parasito, assumindo um importante papel na transmissão da protozoose (de Negri et al., 2008).

O diagnóstico negativo para formas evolutivas de oocistos de *T. gondii* nas fezes de gatos, já era um resultado esperado, uma vez que os gatos quando infectados só liberam tais formas evolutivas um única vez em sua vida, em um curto período de tempo, cerca de 2 semanas. No entanto, a presença de gatos sororreagentes para anticorpos anti-*T. gondii* demonstra que esses felinos se infectaram pelo parasito, e dessa forma o oocisto do protozoário já pode ter sido liberado no ambiente dos Zoológicos. Tal fato, demonstra que a presença de gatos errantes em Zoológicos como evidenciado no presente estudo, pode favorecer a infecção por *T. gondii* nos animais silvestres mantidos nessas Instituições.

Nas instituições onde foi feita a presente pesquisa, mesmo que tenham grande quantidade de gatos errantes, foram observados aproximadamente 45, 17 foram pesquisados apresentando alguns com sorologia positiva para *T. gondii* (17,64%). Não podemos responsabilizar a via hídrica pela infecção nos zoológicos estudados, mesmo porque não foram realizadas análises da qualidade da água de consumo dos animais.

A transmissão hídrica dos oocistos foi considerada rara, até que vários autores demonstraram que essa via poderia ser responsável por muitos casos de toxoplasmose em diferentes espécies de animais (Bowie et al., 1997; Dubey, 2004; de Moura et al., 2006; Sroka et al., 2008).

Estudos recentes mostram que dentre os protozoários causadores de doenças de veiculação hídrica vêm se destacando *T.gondii* pela elevada incidência de casos, devido às suas características de resistência aos tratamentos convencionais de água e capacidade de permanência no ambiente. É reconhecidamente um protozoário de interesse em saúde pública, devido à propagação de oocistos por meio da água, causando surtos de toxoplasmose em diferentes partes do mundo (Karanis et al., 2013). A veiculação hídrica dos oocistos de *T. gondii* é favorecida devido ao longo período que os mesmos podem permanecer viáveis no ambiente e sua resistência à cloração, ozônio e raios ultravioleta (Jones e Dubey, 2010).

Segundo Dah-Sheng et al. (2009) e Marujo et al. (2017) a alta população de gatos com soroprevalência com anticorpos anti-*T. gondii*, pode predispor à contaminação da água potável com oocistos.

4.2.3. Manejo dos técnicos e tratadores no momento da limpeza das instalações dos felídeos silvestres

No RIOZOO, para o manejo dos recintos dos felídeos, por parte dos tratadores, são utilizados materiais de limpeza exclusivos para cada recinto. Os utensílios são higienizados no final de cada procedimento de limpeza diária e com a mesma frequência, é feita a lavagem dos bebedouros, com detergente neutro. No entanto, no PZN os tratadores fazem a limpeza de todos os recintos e depois é feita a limpeza dos utensílios que foram usados neles. Lavagem diária dos bebedouros com água e uma vez na semana com detergente neutro. No entanto, nos espaços dos animais que estão em sistema de semi – confinamento no PZN, como os ungulados, a limpeza fica difícil, uma vez que o solo é formado por chão de terra batida. Apesar do sistema de semi confinamento favorecer o bem estar animal, uma vez que o animal tem mais espaço, podendo explorar os recursos naturais da área disponível, esse sistema pode se tornar um complicador no manejo sanitário.

O manejo sanitário pode ser um dos prováveis fatores que está contribuindo para o aumento da prevalência dos carnívoros no PZN (88,10%), já no RIOZOO só foi encontrado um animal sororreagentes entre os carnívoros (3,85%).

4.2.4. Qualidade do alimento oferecido aos animais

No RIOZOO a dieta oferecida aos carnívoros é carne bovina e frango congelado e tem uma frequência de três dias por semana, o que pode, também, explicar o reduzido número de animais sororreagentes para *T.gondii* nos carnívoros. Por outro lado, no PZN a alimentação dos carnívoros é baseada em carne de cavalo crua (os animais são abatidos no próprio zoológico) e com uma frequência de cinco vezes por semana. Esta poderia ser uma outra explicação para a elevada prevalência em carnívoros no PZN. Embora, tenham sido examinados dez cavalos para detectar presença de anticorpo anti- *T. gondii*, todos foram não soro reagentes. Cabe ressaltar que estes animais são provenientes de várias regiões do país. Mesmo sendo os resultados negativos

este ainda é um fator de risco predisponente, uma vez que foram testados um número pequeno de animais.

Ferreira e Navarro (1994) e Andre et.al. (2010) ressaltavam a importância de evitar a entrada de gatos domésticos no local de armazenamento dos alimentos e às áreas de recintos para evitar a contaminação com oocistos de *T. gondii*, aspecto importante para prevenir a infecção de ungulados e primatas não humanos. No entanto, no PZN, gatos domésticos errantes são frequentemente observados entrando nos estábulos, característica que pode estar favorecendo a infecção desses animais.

4.2.5. Presença de carreadores mecânicos nas áreas onde ficam os animais silvestres

Outro fator que pode estar contribuindo para a frequência parasitária tanto no RIOZOO como no PZN é o controle de pragas que não é realizado, havendo uma ampla variedade de insetos e presença de roedores naqueles locais. Em todos os tipos de parques zoológicos é fundamental a implementação de um programa de controle integrado de pragas (FUNASA, 2002). Segundo Collins e Powell (1996), o objetivo desse programa em um zoológico é reduzir pragas com o mínimo de pesticidas. Esses autores acrescentam ainda que, os mecanismos utilizados continuamente é a estratégia mais importante para o controle de pragas a longo prazo e que os métodos de eliminação pontual só irão resultar em uma redução temporária do número de indivíduos. Outro fator importante para o controle de pragas é a redução do número de locais infestados.

4.3. Detecção de oocistos com morfologia similar a *T. gondii* em felinos silvestres cativos

Os zoológicos são uma maneira de conservação *ex-situ*, onde existem uma ampla variedade de espécies de animais em um espaço reduzido, fato que implica na disseminação de doenças (Thawait et al., 2014). A grande diversidade de animais em cativeiro nessas instalações, com os diversos parasitos adquiridos tanto nos locais de origem como durante a sua estadia nos zoológicos, aumenta a possibilidade das infecções zoonóticas (Chomel, 2008; Botero et al., 2011; Botero e Restrepo, 2012; Papini et al., 2012). Outro fato importante que pode influenciar na instalação de zoonoses é o estresse constante do cativeiro, fator que faz com que o sistema imune desses animais seja alterado

tornando-os mais susceptíveis a infecções (Gracenea et al., 2002; Cordon et al., 2008). Na maioria dos casos, as infecções intestinais são assintomáticas, sendo que em filhotes e animais jovens os sintomas podem ser mais graves, levando inclusive a óbito (Müller et al., 2005).

Parasitos e outros agentes infecciosos são motivos de grande preocupação na conservação de espécies ameaçadas, pois podem levar à morte, com declínio dramático da população e até mesmo contribuir para eventos locais de extinção da espécie. (Smith et al., 2006; Aguirre et al., 2007; Wisely et al., 2008; Smith et al., 2009). Além das parasitoses, os animais em cativeiro apresentam problemas dentários e cutâneos, bem como doenças nutricionais dependendo do tipo de manejo e cuidados que recebem (Oliveira et al., 2001; Junior et al., 2007).

Alguns estudos revelam que parasitos gastrointestinais de animais selvagens em cativeiro incluem espécies que são zoonóticas para humanos e apresentam problemas de saúde pública (Levecke et al., 2007; Adekunle e Olayde, 2008, Akinboye et al., 2010; Opara et al., 2010, Ajibade et al., 2010, Otegbade e Morenikeji, 2014).

O controle parasitológico é importante para cuidados preventivos de saúde, particularmente em climas úmidos e quentes. A este respeito, determinar a presença de parasitos gastrointestinais em primatas não humanos em cativeiro permitirá medidas preventivas e minimizar os efeitos negativos das infecções parasitárias, além de melhorar a qualidade de vida desses animais (Guerrero et al., 2012).

Do total de amostras fecais coletadas (n=52), 10 (19,23%) foram positivas com infecções com um ou mais parasitos gastrintestinais. A prevalência de parasitos gastrointestinais no PZN foi de 17,5% (7/40) e no RIOZOO 25% (3/12) (Tabela 8). As espécies com maior positividade de parasitos gastrintestinais no PZN foram Suçuarana (40%) e Onça pintada (20%). No entanto, as únicas espécies positivas no RIOZOO foram os Leões (100%) e Jaguaritica (50%). Além disso, podemos observar os diferentes tipos de parasitos encontrados no estudo (Tabela 8). No PZN foi detectada a presença de ovos de nematoides similar à família Ancylostomatidae (12,5%) (Figura 15) e *Toxascaris leonina* (10%) (15b). Já no RIOZOO foram observadas a presença de larvas de nematoides (9,09%), ovos de nematoides similar à família Ancylostomatidae (9,09%), *Toxascaris leonina* (18,2%) e os ovos de cestóides da família Diphyllbothriidae (9,09%).

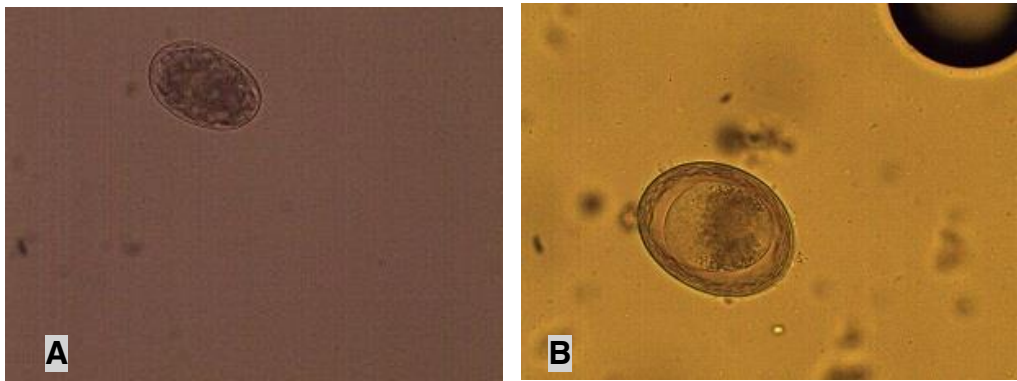


Figura 15. Parasitos encontrados em felídeos do Parque Zoológico Nacional de Cuba: A- ovos de nematoides similar à família Ancylostomatoidae em matéria fecal de Leão (*Panthera leo*); B- *Toxascaris leonina* em material fecal de Leopardo (*Panthera pardus*). Fonte: original do autor.

Tabela 8. Prevalência de parasitos gastrointestinais em felídeos silvestres em cativeiro no Parque Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro

Zoo	Animais	Total de amostras (n)	No. Positivos e prevalência (%)	Larva de nematoide (%)	Ovos de nematoides similar à família Ancylostomatidae (%)	<i>Toxascaris leonina</i> (%)	Ovos da família Diphyllbothriidae (%)
PZN	Leão Africano	17	3 (17,6)	-	1 (33,3)	3 (100)	-
	Tigre de Bengala	2	-	-	-	-	-
	Onça	5	1 (20)	-	1 (100)	-	-
	Suçuarana	6	1 (16,7)	-	1 (100)	-	-
	Caracal	2	-	-	-	-	-
	Leopardo	5	2 (40)	-	2 (100)	1 (50)	-
	Cheetah	3	-	-	-	-	-
	Total	40	7 (17,5)	-	5 (71,4)	4 (57,1)	-
RIOZOO	Leão Africano	2	2 (100)	-	-	2 (100)	-
	Tigre de Bengala	2	-	-	-	-	-
	Tigre de Siberia	1	-	-	-	-	-
	Gato-do-mato-pequeno	2	-	-	-	-	-
	Onça	1	-	-	-	-	-
	Jaguatirica	2	1 (50)	1 (50)	1 (50)	-	1 (50)
	Suçuarana	1	-	-	-	-	-
	Gato mourisco	1	-	-	-	-	-
Total	12	3 (30)	1 (33,3)	1 (33,3)	2 (66,6)	1 (33,3)	

Ao analisar estruturas parasitárias nas amostras fecais de diferentes espécies de felídeos do PZN e do RIOZOO, foi observada uma frequência geral de 68,3%. Outros autores, que também analisaram a frequência de parasitoses gastrintestinais incluindo animais em cativeiro, de diferentes Ordens taxonômicas, relataram positividade inferior a encontrada no presente estudo. Nos Zoológicos do Paraná, Brasil, 38,95% (Snak et al., 2017), da Malásia 56,3% (Lim et al., 2008), da Índia 46,2% e 58% (Thawait et al., 2014), de Bangladesh 60% (Khatun et al., 2014) e da Itália 61,5% (Fagiolini et al., 2010). Outros estudos relataram positividade superior como nos Zoológicos da Espanha 72,5% (Córdon et al., 2008) e em Pernambuco, Brasil 74,2% (Freitas et al., 2001).

A infecção por coccídeos e trematódeos não foi detectada. O poliparasitismo foi detectado, no PZN, nas espécies Leão Africano e Leopardo. Estes animais apresentaram co-infecção de ovos de nematoides similares aos da família Ancylostomatidae e *Toxascaris leonina*. No RIOZOO, foi detectada uma Jaguatirica com co-infecção ovos de nematoides similares à família Ancylostomatidae e da família Diphyllbothriidae e de larvas de nematoides (Tabela 9).

Tabela 9. Poliparasitismo em felinos silvestres em cativeiro no Parque Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, no período de janeiro a maio de 2018

Zoológico	Espécie afetada	Parasitas presentes nas co-infecções	No. de casos
PZN	Leão Africano	Ovos de nematoides similares aos da família Ancylostomatidae + <i>Toxascaris leonina</i>	1
	Leopardo	Ovos de nematoides similares aos da família Ancylostomatidae + <i>Toxascaris leonina</i>	1
RIOZOO	Jaguatirica	Larvas de nematoides + ovos de nematoides similares aos da família Ancylostomatidae + ovos da família Diphyllbothriidae	1

No PZN, os animais, em cativeiro, na faixa etária de <5 e 5 até 10 anos foram os mais afetados (18,2%). No entanto, no RIOZOO a faixa etária mais afetada foi a dos animais com >10 anos (40%). As frequências obtidas na pesquisa apresentam resultados inferiores aos relatados por Aranda et al. (2013) em um zoológico no Perú, onde a maior frequência de animais positivos foram os que estavam na faixa etária de 5 a 10 anos (83,30%) seguidos dos animais com >10 anos (71,40%). Com relação ao sexo, os machos do PZN foram os mais afetados (23,1%) e no RIOZOO não houve diferença entre os sexos (25%). Estes autores acrescentam que foram os machos os que apresentaram uma maior frequência (64,7%) (Tabela 10).

Tabela 10. Frequência de parasitos intestinais em felídeos silvestres cativos no Parque Zoológico Nacional de Cuba e no RIOZOO segundo faixa etária e sexo.

Variáveis		Animais do PZN			Animais do RIOZOO		
		Amostrados (n)	Positivos (n)	Positivos (%)	Amostrados (n)	Positivos (n)	Positivos (%)
Faixa etária (anos)	< 5	22	4	18,2	0	0	0
	5 até 10	11	2	18,2	7	1	14,3
	> 10	7	1	14,3	5	2	40
	Total	40	7	17,5	12	3	25
Sexo	Fêmea	14	1	7,14	4	1	25
	Macho	26	6	23,1	8	2	25
	Total	40	7	17,5	12	3	25

4.4. Comparar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* entre os trabalhadores com risco ocupacional do PZN e do RIOZOO e avaliar a percepção de risco, a competência profissional e os principais fatores de risco dos trabalhadores do PZN e do RIOZOO

Artigo *Publicado na Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública.*

v.6, n. 1, p. 016-029, 2019

Avaliação da percepção de fatores de risco da transmissão de *Toxoplasma gondii* dos trabalhadores, em suas atividades ocupacionais, no Zoológico Nacional de Cuba e da Fundação Jardim Zoológico de Rio de Janeiro, Brasil

ECHARTE, Ginette Villar^{1*}; FERNÁNDEZ, Yolanda Emilia Suárez²; AUGUSTO, Anderson Mendes³; SANTOS, Ana Letícia Carvalho⁴; DANTAS, Marcia Macedo Lima⁴; IRAOLA, Raymundo Cox⁵; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis⁴

1. Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

2. Universidad Agraria de La Habana

3. Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro

4. Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

5. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", Cuba

Resumo

Introdução: A prática da medicina veterinária expõe o profissional a riscos, sendo que a probabilidade aumenta para os que trabalham em zoológicos. O presente estudo, aborda a infecção toxoplásmica em indivíduos com atividades laborais com animais silvestres em cativeiro. **Objetivo:** O objetivo da pesquisa foi avaliar as variáveis: percepção de risco e competência profissional, assim como os fatores de risco associado à presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em trabalhadores com risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no RIOZOO. **Métodos:** Para tanto, foram pesquisados 133 trabalhadores expostos ocupacionalmente (n=79 do Zoológico Nacional de Cuba e n=54 do RIOZOO) entre médicos veterinários, biólogos, técnicos e pessoal de serviços com atividades relacionadas aos animais. Para avaliar as variáveis foi utilizado o questionário "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associado ao manejo territorial das zoonoses", desenvolvido e validado em Cuba pela Dra. Suárez e colaboradores (2006), modificado (2008). Na análise estatística dos dados foi realizada a prova de X^2 utilizando o software Epidat 3.1 (2006). Para a detecção dos anticorpos anti-*T. gondii* foram utilizadas as técnicas

de ELISA e RIFI. As amostras foram analisadas no Laboratório de Toxoplasmose do Instituto Medicina Tropical “Pedro Kouri” em Cuba e no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, RJ, Brasil. Resultados: Na análise das respostas obtidas por meio do questionário não se encontrou diferenças estatísticas ($p \geq 0.05$) entre os dois zoológicos. As variáveis, percepção de risco e competência profissional, foram pontuadas, predominantemente, como categoria nominal “MÉDIA”. Nos resultados sorológicos dos trabalhadores, somente o grupo dos técnicos (Zoológico Nacional de Cuba, 43,75% e RIOZOO 75%) mostrou diferenças estatísticas significativas $p \leq 0.05$ entre os dois zoológicos. Conclusão: Os níveis de percepção de riscos dos trabalhadores investigados não foram estatisticamente diferentes entre os dois zoológicos com relação à competência profissional.

Palavras-chave: trabalhadores ocupacionalmente expostos, *Toxoplasma gondii*, percepção de risco, competência profissional.

Intrudução

Profissionais veterinários podem entrar em contato com diferentes fontes de riscos à saúde ocupacional. Uma alta prevalência de lesões tem sido relatada, predominantemente em relação ao trabalho com animais de grande porte (Lucas et al., 2009), mordidas de cães e gatos e/ou arranhões e escarpa ou lesões ocasionadas por acidentes com agulhas (Phillips et al., 2000; Nienhaus et al., 2005). Os profissionais também estão expostos a outros riscos ocupacionais, incluindo exposição a produtos químicos, acidentes decorrentes do transporte de animais (Phillips et al., 2000) e doenças infecciosas por patógenos zoonóticos (Epp e Waldner, 2012; Jackson e Villarroel, 2012; Dowd et al., 2013). Há aumento de relatos de bactérias resistentes a antimicrobianos ocupacionalmente adquiridas em profissionais veterinários (Cuny e Witte, 2016; Groves et al., 2016), o risco zoonótico na profissão veterinária merece atenção.

É importante destacar que os trabalhadores dos centros veterinários e zoológicos encontram-se dentro do grupo de pessoas mais expostas a vários riscos associados à exposição de agentes biológicos (González 2012).

Métodos

Considerando o exposto, para presente pesquisa, foram estudados 79 trabalhadores do Parque Zoológico Nacional de Cuba e 54 trabalhadores do

Zoológico do Rio de Janeiro, todos expostos a risco ocupacional de infecção com agentes zoonóticos, como *T.gondii*. Os resultados obtidos pelas técnicas de ELISA e RIFI não apresentaram diferenças significativas (Kappa= 50% e conegatividade= 53% e copositividade= 47% nas amostras de PZN e Kappa= 45% e conegatividade= 35% e copositividade= 67% nas amostras do RIOZOO). Sendo assim, consideramos os resultados de RIFI como a técnica padrão porque foi realizada segundo Camargo 1964. Sendo assim, a prevalência de total das amostras sororreagentes foi de 51,88%, onde 44,30% eram de indivíduos do PZN e 62,96% do RIOZOO. Os mesmos foram agrupados segundo diferentes indicadores (tempo de trabalho, área de trabalho e ocupação).

Resultados e Discussão

Primeiramente foi calculada a frequência do indicador relacionado ao tempo de trabalho nas duas instituições (Tabela 1). Os participantes da pesquisa foram divididos em dois grupos: aqueles com mais de 10 anos trabalhando com animais de zoológico e os que têm menos de 10 anos nesse tipo de trabalho. A frequência por tempo de trabalho indica que somente 46% e 39% dos trabalhadores do PZN e do RIOZOO, respectivamente, permaneceram exercendo suas atividades em suas instituições por mais de 10 anos.

Tabela 1. Frequência de trabalhadores investigados do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo anos de trabalho.

Anos de trabalho	Trabalhadores/ano de trabalho		Frequência relativa		%	
	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro
>10 anos	36	21	0,46	0,39	46	39
< 10 anos	43	33	0,54	0,61	54	61
Total	79	54	1	1	100	100

Frequência de trabalhadores investigados do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo área de trabalho.

Área de trabalho	Trabalhadores/área de trabalho		Frequência relativa		%	
	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro
> risco ^(*)	30	29	0,38	0,54	38	54
< risco ^(**)	49	25	0,62	0,46	62	46
Total	79	54	1	1	100	100

^(*) Clínica, Laboratório, Área de felinos e outros carnívoros. ^(**) Área de elaboração de alimentos dos animais, Área de primatas, Área ungulados.

Após o cálculo de frequência dos trabalhadores, segundo os anos de trabalho, observou-se que a menor frequência está entre os que têm menos de 10 anos de trabalho, o que era de se esperar pois quanto mais tempo exposto aos fatores de risco maior a chance de entrar em contato com o protozoário devido aos seus diversos mecanismos de transmissão. No entanto cabe ressaltar que em sua vida particular o indivíduo pode, em algum momento, entrar em contato com um dos mecanismos de infecção. Esse fato indica que como se trata de pessoas com experiência de trabalho, deveria haver entre eles uma maior consciência no emprego das medidas de proteções no trabalho com os animais (Alonso et al., 2015).

Também foi calculada a frequência segundo as áreas de trabalho: foram consideradas de maior risco aquelas em que o agente etiológico é mais frequente. Dentro dessas áreas, encontraram-se: o espaço dos carnívoros (as

mesmas pessoas fazem o manejo dos felinos e dos outros carnívoros), o laboratório, por ser a área em que se encontram secreções e excreções dos animais e a clínica veterinária, por ser o lugar onde ficam os animais doentes. Nesses ambientes de maior exposição, os trabalhadores podem se contaminar e se tornar disseminadores do agente etiológico por meio de suas botas, luvas entre outros utensílios que possam servir de veiculadores dos oocistos.

As áreas de trabalho de menor risco são aqueles ambientes onde se encontram os ungulados, os primatas e a área de preparação de alimento animal. Nessas áreas, o agente etiológico não há probabilidade de infectar os trabalhadores por meio oocistos.

No PZN, a frequência relativa indica que a maioria dos indivíduos (62 %) trabalhavam em áreas de menor risco e por tanto teoricamente estavam menos expostos ao risco de se infectar (Tabela 1). No entanto, no RIOZOO, o número de trabalhadores em área de maior risco (54%) era discretamente maior do que na área de menor risco (46%).

No presente estudo, também foi avaliada a soroprevalência de infecção por tempo de trabalho com base nos resultados das técnicas sorológicas ELISA e RIFI. Os resultados demonstraram que os trabalhadores, do PZN e do RIOZOO, que tinham mais de 10 anos de serviço apresentavam maior frequência de anti-*T.gondii*. Com um percentual de 52,8% tanto para ELISA quanto RIFI no PZN de Cuba e de 85,7% para ELISA e 81% para RIFI no RIOZOO (Tabela 2). Tal resultado era esperado uma vez que os trabalhadores com mais tempo estava mais tempo exposto aos fatores de risco.

A Tabela 3, apresenta os resultados da sorologia para detecção de anti-*T.gondii* utilizando-se as técnicas ELISA e RIFI por área de maior ou menor risco. Os resultados apontaram para uma maior soroprevalência nas áreas de menor risco com um percentual de 49% no PZN e de 68% no RIOZOO. De maneira geral, o estudo demonstra práticas laborais utilizadas pelos trabalhadores, tanto do zoológico de Cuba quanto do zoológico do Rio de Janeiro, devem ser melhoradas. Uma explicação para o achado seria que esses trabalhadores poderiam ter se infectado em outras localidades que não as de ambos zoológicos, pelo menos nas áreas de menor risco.

Tabela 2. Soroprevalência anti- *Toxoplasma gondii* em trabalhadores ocupacionalmente expostos do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo no tempo de trabalho determinados por as técnicas laboratoriais utilizadas.

Técnica de diagnóstico	Soroprevalência por tempo de trabalho															
	> 10 anos								< 10 anos							
	Parque Zoo. Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro				Parque Zoo. Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro			
	Casos investigados	Casos +	Pp	%	Casos investigados	Casos +	Pp	%	Casos investigados	Casos +	Pp	%	Casos investigados	Casos +	Pp	%
ELISA	36	19	0,528	52,8	21	18	0,857	85,7	43	18	0,419	41,9	33	18	0,545	54,5
RIFI	36	19	0,528	52,8	21	17	0,810	81	43	16	0,372	37,2	33	17	0,515	51,5

Casos +: casos positivos

Pp: Prevalência pontual

Tabela 3. Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* em trabalhadores ocupacionalmente expostos do Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo no tempo de trabalho determinados por as técnicas laboratoriais utilizadas.

Técnica de diagnóstico	Soroprevalência por área de trabalho															
	> risco								< risco							
	Parque Zoo. Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro				Parque Zoo. Nacional de Cuba				Zoológico do Rio de Janeiro			
	Casos investigados	Casos +	Pp	%	Casos investigados	Casos +	Pp	%	Casos investigados	Casos +	Pp	%	Casos investigados	Casos +	Pp	%
ELISA	30	14	0,467	46,7	29	8	0,276	27,6	49	23	0,469	46,9	25	17	0,68	68
RIFI	30	13	0,433	43,3	29	7	0,241	24,1	49	24	0,49	49	25	17	0,68	68

Casos +: casos positivos

Pp: Prevalência pontual

(*) Clínica, Laboratório, Área de felinos e outros carnívoros.

(**) Área de elaboração de alimentos dos animais, Área de primatas, Área ungulados.

A Tabela 4 mostra os resultados de soroprevalência por ocupação profissional, onde se pode notar que a frequência maior de casos de sororreagentes anti-*T.gondii* está entre o pessoal de serviços (função de tratadores, auxiliares do laboratório). Neste caso, os resultados sorológicos para detectar anti-*T.gondii* foram: 65% para ELISA e 60% para RIFI, no PZN, e 76,47% para ELISA e 70,58% para RIFI no RIOZOO. Tal resultado, frequência acima de 60% em ambos zoológicos, era de se esperar, uma vez que os tratadores e os auxiliares de laboratório, além de estarem mais expostos aos fatores de risco tinham pouco conhecimento sobre a transmissão das zoonoses.

Os resultados sorológicos referentes aos técnicos veterinários, mesmo não havendo diferenças estatisticamente significativas ($p \geq 0.05$), existia marcadas diferenças nos percentuais entre os dois zoológicos (43,75% ELISA e 41,67% RIFI - PZN) e (75% ELISA e 79,19% RIFI – RIOZOO). A única explicação para o achado seria que os técnicos poderiam ter se infectado fora do ambiente de trabalho, uma vez, pelo menos os técnicos do RIOZOO eram em sua maioria indivíduos acima de 30 anos de idade (62,50%).

Os demais grupos profissionais mantiveram resultados sorológicos similares.

Em geral, podemos afirmar que nas duas instituições há uma elevada frequência de soropositividade para anti-*T. gondii* nos trabalhadores (54,89%).

Tabela 4. Soroprevalência anti-*Toxoplasma gondii* em trabalhadores ocupacionalmente expostos do Parque Zoológico Nacional de Cuba e do Zoológico do Rio de Janeiro segundo ocupação profissional determinados por as técnicas laboratoriais utilizadas.

OCUPAÇÃO PROFISSIONAL	TOTAL		ELISA		P valor	%		RIFI		%		P valor
	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro		Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	Zoológico Nacional de Cuba	Zoológico do Rio de Janeiro	
Médico Veterinário	5	7	2	3	0,19	40	42,85	2	2	40	28,57	0,18
Outros Profissionais	6	6	2	2	0,19	33,33	33,33	2	2	33,33	33,33	0,19
Técnicos Veterinários	48	24	21	18	0,81	43,75	75	20	19	41,67	79,16	0,83
Pessoal de Serviços	20	17	12	13	0,10	60	76,47	13	12	65	70,58	0,11

Fatores de risco relacionados a zoonoses infecciosas ou parasitárias em ambientes onde animais silvestres permanecem aumentam a probabilidade de o risco de contaminação ser maior. Dentre eles, pode-se afirmar práticas de higiene e manuseio, bem como a atenção veterinária que permite ainda mais aumento da probabilidade de manifestação da doença.

Os principais fatores de risco relacionados à presença de títulos anti-T. gondii em trabalhadores ocupacionalmente expostos no PZN e RIOZOO são

A Tabela 5 mostra a avaliação das variáveis "percepção de risco" e "competência profissional" dos trabalhadores com risco ocupacional nos dois zoológicos. Nela observa-se uma **ALTA** (100%) percepção de risco do grupo dos médicos veterinários do Parque Zoológico Nacional de Cuba e dos médicos veterinários do Zoológico do Rio de Janeiro foi entre **ALTA** e **MÉDIA** (66,66 % e 33,34 %). Já em relação à competência profissional, obtivemos uma taxa entre **ALTA** e **MÉDIA**, (60% e 40%), no parque PZN. No RIOZOO, esses percentuais foram: **MÉDIA** (50%), **BAIXA** (33,33%) e **ALTA** (16,67%). Esses números mostram uma despreocupação por parte dos médicos veterinários, só 16,67% usava os equipamentos de proteção individual para o trabalho com os animais, assim como que esses profissionais não tinham bons hábitos de higiene após do trabalho. No caso dos outros profissionais de nível superior, a percepção de risco ficou entre **ALTA** e **MÉDIA** (50%), no PZN. Já no RIOZOO, essa percepção apresentou-se **ALTA** (66,66%) e **MÉDIA** (33,34%). Já os outros profissionais de nível superior tiveram, em relação à competência profissional, uma taxa entre **ALTA** (50%), **MÉDIA** (33,33 %) e **BAIXA** (16,67%) nesse grupo do PZN. No RIOZOO, variou entre **MÉDIA** (66,66%) e **ALTA** (33,34%). Portanto, a estatística mostra que não houve diferenças significativas em nenhuma das ocupações profissionais.

Este estudo, também contempla a importância da vigilância e o comportamento epidemiológico de zoonoses. É o primeiro passo para iniciar um programa de combate e controle desses agravos (Miller et al., 2000), além de ressaltar que a exigência de qualquer ação para a prevenção e o controle é a vigilância sanitária (Alonso et al., 2015).

Segundo a OIE (2013b; 2015) designa como competências básicas dos veterinários o conhecimento, as habilidades e as atitudes requeridas para que uma organização veterinária oficial habilite a prática da profissão. Esse grupo

deve ter o conhecimento teórico e prático na orientação e capacitação para evitar o risco das doenças zoonóticas (Hanisch–Kirkbrid et al., 2013).

Isso se explica por que em algumas atividades inerentes à profissão, como a assistência veterinária, há risco de contágio de algumas zoonoses, cuja condição é assumida pelo profissional como "inevitável" (García, 2013; Robin et al., 2017).

Tabela 5. Comportamento da percepção de risco e a competência profissional dos trabalhadores ocupacionalmente expostos por ocupação profissional

OCUPAÇÃO PROFISSIONAL	PERCEPÇÃO DE RISCO		COMPETÊNCIA PROFISSIONAL	
	Zoo Nacional de Cuba	Zoo do Rio de Janeiro	Zoo Nacional de Cuba	Zoo do Rio de Janeiro
Médico Veterinário	Alta → 100%	Alta → 66,66% Média → 33,34%	Alta → 60% Média → 40%	Alta → 16,67% Média → 50% Baixa → 33,33%
Outros Profissionais	Alta → 50% Média → 50%	Alta → 50% Média → 33,33% Baixa → 16,67%	Alta → 66,66% Média → 33,34%	Alta → 33,34% Média → 66,66%
Técnicos Veterinários	Alta → 58,33% Média → 33,34% Baixa → 8,33%	Alta → 58,67% Média → 33,33% Baixa → 8%	Alta → 64,58% Média → 22,92% Baixa → 12,5%	Alta → 20% Média → 72% Baixa → 8%
Pessoal de Serviços (tratadores e técnicos de laboratório)	Alta → 30% Média → 60% Baixa → 10%	Média → 66,66% Baixa → 33,34%	Alta → 20% Média → 45% Baixa → 35%	Média → 86,67% Baixa → 13,33%

Agradecimentos

Agradecemos aos trabalhadores do Zoológico Nacional de Cuba e do RIOZOO, que participaram da pesquisa, e à equipe do Laboratório de Toxoplasmose do Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", em Cuba e a do Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozoose do Instituto Oswaldo Cruz RJ-Brasil, onde foram processadas as amostras dos trabalhadores.

Referência

ALONSO, R.; SOLANS, X.; CONSTANS, A. Centros veterinarios: exposición laboral a agentes biológicos. Notas técnicas de prevención. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. Chile. 2015.

AMENDOEIRA, M.R.R.; CAMILO-COURA, L.F. Uma breve revisão sobre a toxoplasmose na gestação. *Scientia Medica*, Porto Alegre 2010; 20(1): 113-119.

ARTIGAS, R.; GÓNGORA, W.; COBOS, D.; GOYA, Y.; MIRANDA, A. Aspectos básicos sobre la patogenia, respuesta inmune y bioseguridad en el trabajo con el *Toxoplasma gondii*. Centro de Inmunología y Biopreparados. Holguín. Cuba. Correo Científico Médico.

LUCAS M, DAY L, SHIRANGI A, FRITSCHI L. Significant injuries in Australian veterinarians and use of safety precautions. *Occup. Med. (Lond.)*. 2009; 59, 327–333. <http://dx.doi.org/10.1093/occmed/kgp070>.

NIENHAUS A, SKUDLIK C, SEIDLER A. Work-related accidents and occupational diseases in veterinarians and their staff. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 2005, 78, 230–238. <http://dx.doi.org/10.1007/s00420-004-0583-5>.

PHILLIPS M, JEYARETNAM J, JONES H. Disease and injury among veterinarians. *Aust. Vet. J.* 2000; 78, 625–629. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.2000.tb11939.x>.

PERES, F. Onde Mora o Perigo? Percepção de riscos, ambiente e saúde. In: de Souza, MCM & Carvalho, A. Saúde e ambiente sustentável: estreitando nós. Parte II.3. Ed. Fiocruz. 2010.135–138

SUÁREZ Y, FABRÉ Y, SOCA M, FUENTES M, CABRERA C, ÁLVAREZ J. Metodología para el análisis de algunos indicadores de riesgo asociado al manejo territorial de las zoonosis. *Revista Electrónica de Veterinaria* 2006, 7(9).

SUÁREZ Y, FABRÉ Y, SOCA M, FUENTES M. Propuesta de acciones de reducción de riesgos de servicios veterinarios –servicios de salud pública–intersectoriales. Resultado Terminado base Técnica para el análisis, 28. Manejo y reducción de Riesgos de presentación de enfermedades zoonóticas y transmitida por alimentos (ETA) asociados o no a la ocurrencia de desastres naturales hidrometeorológico. La Habana, Cuba: informe de Proyecto. Proyecto Territorial CITMA/Habana. 2008.

ZANELLA, J.R. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. *Pesq. Agropec. Bras. Brasília*. 2016; 51(5): 510– 519.

5. CONCLUSÃO

A soroprevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* nos primatas não humanos, carnívoros e ungulados do Parque Zoológico Nacional de Cuba foi mais elevada (87,36%) do que a encontrada nas mesmas ordens do Zoológico do Rio de Janeiro (39,09%). Os resultados deste estudo demonstram a importância dos animais silvestres como sentinelas da infecção por este parasito, podendo ser considerados indicadores de que a transmissão está ocorrendo no local. Das variáveis epidemiológicas avaliadas foi o fato de ter nascido em cativeiro foi a única variável que mostrou diferença significativa.

Existem fatores de risco como a presença de gatos errantes sororreagentes (20% no RIOZOO e 14,28% no PZN) e outros animais que podem ser considerados como carreadores mecânicos, qualidade do alimento e da água e o manejo, são fatores que podem estar influenciando na presença da infecção toxoplásmica nos animais dos zoológicos de Havana e do Rio de Janeiro.

No exame de fezes dos felinos não foram detectadas formas morfológicas similares a oocistos. No entanto, os exames coproparasitológicos mostraram a presença de larvas e ovos de nematoides similares aos da família Ancylostomatidae e ovos da família Diphyllbothriidae.

Nas duas instituições foi observada elevada frequência de soropositividade para anti-*T. gondii* nos trabalhadores expostos (51,88%), sendo que a frequência de sororreagentes no RIOZOO era mais elevada (62,96%) do que no PZN (44,30%).

No RIOZOO a variável tempo de trabalho (mais de 10 anos) foi um fator importante para a presença de trabalhadores sororreagentes (81%) do que no PZN (52,8%).

Os participantes de serviços (tratadores, auxiliares do laboratório) foi o grupo de maior positividade no PZN (65%) e no RIOZOO o grupo dos técnicos de veterinários apresentaram maior número de sororreagentes (79,16%).

Todos os trabalhadores tiveram uma elevada percepção de risco (acima de 50%) tanto os do PZN quanto os do RIOZOO. Com relação a competência profissional todos os grupos estavam em média de 50%, sendo que chegou a

100% acima da média no grupo dos médicos veterinários do PZN e no grupo dos outros profissionais do RIOZOO.

6. PERSPETIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos na presente pesquisa não significam o término do estudo da temática. Deve ser considerado como um estímulo à exploração e ampliação da temática em futuras pesquisas destinadas ao conhecimento da epidemiologia de zoonoses em animais silvestres em cativeiro e em profissionais com risco ocupacional.

No contexto anterior, são importantes os estudos de genotipagem molecular de isolamento do parasito em animais silvestres dado a importância da preservação destes em cativeiro.

Este trabalho incentiva a ampliação desta pesquisa aplicada a outros grupos de animais, tais como o grupo das aves, o qual não foi considerado devido ao manejo das mesmas. O estudo deste grupo é particularmente interessante, pois com ele poderia complementar aspectos epidemiológicos importantes da infecção por *Toxoplasma gondii* no PZN e no RIOZOO.

Se mostra interessante uma abordagem que estabeleça estratégias de educação em saúde com a participação dos diferentes atores sociais envolvidos para o combate da toxoplasmose e de outras zoonoses em zoológicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adl SM, Simpson AGB, Farmer MA, Anderson RA, Anderson OR, Barta JR, Bowser SS, Brugerolle G, Fensome RA, Fredericq S, James TY, Karpov S, Kugrens P, Krug J, Lewis CE, Lodge J, Lynn DH, Mann DG, McCourt RM, endoza L, Moestrup O, Mozley–Standridge SE, Nerad TA, Shearer CA, Smirnov AV, Spiegel FW, Taylor MFJR. The Revised Classification of Eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 2012; 59(5):429–493.

Aguirre AA, Keefe TJ, Reif JS, Kashinsky L, Yochem PK, Saliki JT, Stott JL, Dubey JP, Goldstein T, Braun R, Antonelis G. Infectious disease monitoring of the endangered Hawaiian monk seal. *J. Wildlife Dis.* 2017; 43:229-24. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-43.2.229>.

Ajibade WA, Adeyemo OK, Agbede SA. Coprological survey and inventory of animals at Obafemi Awolowo University and University of Ibadan zoological gardens. *World Journal of Zoology.* 2010; 5(4):266-271.

Akinboye DO, Ogunfemi AA, Fawole O, Agbolade O, Ayinde OO. Control of parasitic infections among workers and inmates in a Nigerian Zoo. *Nigerian Journal Parasitology.* 2010; 31:35-38; <http://dx.doi.org/10.4314/njpar.v31i1.69456>.

Alvarado-Esquivel C, Gayosso-Dominguez EA, Villena I, Dubey JP. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infectio in captive mammals in three zoo in Mexico City, Mexico. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* 2013, 44(3): 803-803. <http://dx.doi.org/10.1638/2013-0032.1>.

Alonso R, Solans X, Constans A. Centros veterinarios: exposición laboral a agentes biológicos. Notas técnicas de prevención. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. Chile. 2015.

Amaral FPG. Avaliação Ergonômica em estações de trabalho no Parque Zoológico municipal de Bauru/SP e na Fundação Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro/RJ – Estudo de caso de tratadores de Felinos de grande porte. Dissertação de Mestrado em Sistemas de Gestão–Universidade Federal Fluminense. Niterói/RJ. 2002; p.162.

Amendoeira MRR. Mecanismos de Transmissão da Toxoplasmose. *Anais da Academia Nacional de Medicina.* 1995; 155(4):224–225.

Amendoeira MRR, Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. *Revista Souza Marques.* 1999; 1(1):15-35.

Amendoeira MRR, Camillo-Coura LF. Uma breve revisão sobre toxoplasmose na gestação. *Scientia Medica (Porto Alegre).* 2010; 20(1):113-119. 2010.

Andrade MMC, Carniero M, Medeiros AD, Neto VA, Vitor RWA. Seroprevalence and risk factors associated with ovine toxoplasmosis in Northeast Brazil. *Parasite.* 2013; 20:20.

Andre MR, Adania CH, Teixeira RHF, Silva KF, Jusi MMG, Machado STZ, Bortolli CP, Falcade M, Sousa L, Alegretti SM, Felipe PAN, Machado RZ. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Captive Neotropical and Exotic

Wild Canids and Felids. *The Journal of Parasitology*, Lawrence. 2010, 96(5):1007-1009.

Ângelo MH. Prevalência dos anticorpos anti-toxoplasmose. *Arq. Inst. Nac. Saúde*. 1983; 8:105-109.

Aragão GMO, Kazama R. Percepção Ambiental de Visitantes do Zoo de Brasília e a Possibilidade de se Aprender e Ensinar Nesse Ambiente. *Acta Scientiarum: Human and Social Sciences*. Maringá. 2014; 36(1): Jan/Jun.

Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): serology and oocyst shedding. *J. Parasitol.* 1998; 84: 438-440.

Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoft C, Schwantje H, Ribble CS.. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect.* 1999; 122:305-315.

Arantes TP, Zanetti WDL, Ferreira RM, Pinto JSP, Pinto VM, Sakamoto CA, da Costa AJ. *Toxoplasma gondii*: Evidencia de la transmisión por semen en perros. Disponível em: <https://www.affinity-petcare.com/veterinary/actualidad-veterinaria/Noticias/2378>. Acessado em 28 de dezembro de 2018. 2009.

Augusto AM. Gestão dos resíduos sólidos nos Zoológicos do Brasil: o caso da Fundação Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2016.

Bahia-Oliveira LMG, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CCF, Oréfice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg, Infect. Dis.* 2003; 9:55-62.

Bandoli JG, Oliveira CAB. Toxoplasmose em *Sotalia guianensis* (Van Beneden 1863), Cetacea-Delphinidae. *Folha Méd.* 1977; 75:459-468.

Baran DA, Alwarshetty MM, Alvi S, Arroyo LH, Lubitz S, Pinney S, Gass AL, Zucker MJ. Is toxoplasmosis prophylaxis necessary in cardiac transplantation? Long-term follow-up at two transplant centers. *J. Heart Lung Transplant.* 2006; 25:1380-1382.

Barbosa BB, Rebello FK, dos Santos MAS, Lopes MLB. Mercado de produtos e serviços para animais silvestres de estimação no município de Belém (PA). *PUBVET.* 2018; 12(4): 1-7.

Bastien P. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2002; 96:205-215.

Beldomenico PM. Medicina y animales silvestres: desafío para las ciencias veterinarias en el siglo XXI. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias.* 2006; 5(1-2): 7-20.

Bermúdez R, Faílde LD, Losada AP, Nieto JM, Quiroga MI. Toxoplasmosis in Bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*) in Spain. *Vet. Parasitol.* 2009; 160:155-158.

Beverley JKA. 1958. A rational approach to the treatment of toxoplasmic uveitis. *Trans. Ophthalmol. Soc. UK.* 78:109-121.

Blyde D. Advances of treating diseases of macropods. In D. I. Bryden (Ed) *Wildlife in Australia Healthcare & Management*. Proceeding 327. Post Graduate Foundation in Veterinary Science. University of Sidney, Syney. 1999, 247-51.

Bonna ICF, Figueiredo FB, Costa T, Vicente RT, Santiago CAD, Nicolau JL, Neves LB, Millar PR, Sobreiro LG, Amendoeira MRR. Estudo sorológico-epidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 2006; 13(3):186–189.

Botero LC, Fernández A, Forero N, Rosas S, Soler-Tovar D. Análisis retrospectivo de las enfermedades parasitarias del mono ardilla (*Saimiri sciureus*) en dos condiciones *ex situ* en el noroccidente de los Andes suramericanos. *Revista Medicina Veterinaria*. 2011, 22:85-93; <https://doi.org/10.19052/mv.557>

Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humanas. Incluye Animales venenosos y ponzoñosos. 5^a Ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín. 2012.

Boughattas S, Behnke J, Sharma A, Abu-Madi M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in feral cats in Qatar. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13(1):2-6.

Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet*. 1997; 350:173–177.

Boyer KM, Nadipura SM. Toxoplasmosis pp 2208-2223. Em: Dickson DD, Griffin DO, Gwadz RW, Hotez PJ, Knirsch CA (6th edição). *Parasitic Disease*. Springer-Verlag, New York, Inc. 2018.

Brown M, Lappin MR, Brown JL, Munkhtsog B, Swanson WF. Exploring the ecologic basis for extreme susceptibility of pallas' cats (*Otocolobus manul*) to fatal toxoplasmosis. *J. Wildl. Dis*. 2005; 41:691–700.

Buxton D. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. *Vet. Res*. 1998; 29:289–310.

Buxton D, Thomson KM, Maley S. Treatment of ovine toxoplasmosis with a combination of sulphamezathine and pyrimethamine. *Vet. Rec*. 1993; 132:409–411.

Cabezón O, Resendes AR, Domingo M, Raga JÁ, Agustí C, Alegre F, Mons JL, Dubey JP, Almeria S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild dolphins from the Spanish Mediterranean coast. *J. Parasitol*. 2004; 90:643–644.

Canfield PJ, Hartley WJ, Dubey JP. Lesions of toxoplasmosis in Australian marsupials. *J. Comp. Pathol*. 1990; 103:159–167.

Cañon-Franco WA, de Araújo FAP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* in small neotropical wild felids. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 2013; 50:50–67.

Carr N, Cohen S. The public face of zoos: images of entertainment, education and conservation. *Anthozoos*. 2011; 24(2): 175-189.

- Carruthers V, Boothroyd JC. Pulling together: an integrated model of *Toxoplasma* cell invasion. *Current Opinion in Microbiology*. 2007; 10:83–89.
- Carme B, Ajzenberg D, Demar M, Simon S, Dardé ML, Maubert B, de Thoisy B. Outbreaks of toxoplasmosis in a captive breeding colony of squirrel monkeys. *Vet. Parasitol.* 2009; 163:132–135.
- Casartelli-Alves L, Ferreira LC, Vicente RT, Millar PR, Oliveira RVC, Amendoeira MRR, Schubach TMP, Menezes RC. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas criadas extensivamente em Rio Bonito, Rio de Janeiro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2012, 64(5):1398-1401.
- Cavalcante GT, Aguiar DM, Chiebao D, Dubey JP, Ruiz VL, Dias RA, Camargo LM, Labruna MB, Gennari SM. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural Western Amazon, Brazil. *J Parasitol.* 2006; 92:863–4.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIVInfected adults and adolescents; Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. 2019; 200–202.
- Choi WY, Yoo JE, Nam HW, Oh CY, Kim SW, Katakura K, Kobayashi A. *Toxoplasma* antibodies by indirect latex agglutination tests in zoo animals. *The Korean J. Parasitol.* 1987; 25:13–23.
- Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Br. Med. J.* 2000; 321:142–147.
- Conrad PA, Miller MA, Kreuder C, James ER, Mazet J, Dabritz H, Jessup DA, Gulland F, Grigg ME. Transmission of *Toxoplasma*: clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. *Int. J. Parasitol.* 2005; 35:1155–1168.
- Cordon GP, Prados AH, Romero D, Moreno SM, Pontes A, Osuna A, Rosales MJ. Intestinal parasitism in the animals of the zoological garden “Pena Escrita”, Almunecar, Spain. *Veterinary Parasitology.* 2008; 156:302-309; <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.05.023>
- Collins D, Powell D. Applied pest control at woodland park zoological gardens. *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians.* 1996; 290-295.
- Costa DGC, Marvulo MFV, Silva JSA, Santana SC, Magalhães FJR, Filho CDFL. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. *J Parasitol.* 2012; 98:679–80.
- Crawford GC, Dunker FH, Dubey JP. Toxoplasmosis as a suspected cause of abortion in a gre enland muskox (*Ovibos moshatus wardi*). *J. Zoo Wildl. Med.* 2000; 31:247–250.
- Cubas SZ, Silva JC, Catão–Dias JC. *Tratado de Animais Selvagens*. Ed. Roca LTDA. Brasil. 2007.
- Cubillas SH. Rosalia Abreu y el primer Zoológico de Cuba, su colonia de primates y el centenario del nacimiento del primer chimpancé cautivo en el mundo (27 abril 1915- 27 abril 2015). *Revista CubaZoo.* 2015, 28:4-8.

- Cunha NC, Cordeiro MD, Bravo SAC, Matos PCM, Almosny NRP, Fonseca AH. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em cães no estado do Rio de Janeiro. Rev. Bras. Med. Vet. 2016, 38(Supl.3):109-112.
- Cunningham AA, Buxton D, Thomson KM. An epidemic of toxoplasmosis in a captive colony of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). J. Comp. Pathol. 1992; 107:207–219.
- Cuny C, Witte W. MRSA in equine hospitals and its significance for infections in humans. Vet. Microbiol. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.01.013>.
- Cutler SJ, Fooks AR, van der Poel WHM. Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. Emerging Infectious Diseases. 2010; 16:1-7. DOI: 10.3201/eid1601.081467.
- Dabritz HA, Miller MA, Atwill ER, Gardner IA, Leutenegger CM, Melli AC, Conrad PA. Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2007; 231:1676–1684.
- Dah-Sheng LN, Nien-Chieh S, Chang-Young AF. Prevalences of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Taipei Zoo Animals. Taiwan Vet J. 2009 35(1):43-48.
- da Silva CM, de Peder LD, Menolli RA, Takizawa MGMH, Takizawa MCH, Horvath JD, Silva ES, Teixeira JJV, Bertolini DA. *Toxoplasma gondii*–soroprevalência em pacientes HIV no Sul do Brasil. Saúde (Santa Maria). 2017; 43(2):73-80.
- da Silva RC, Machado GP, Cruvinel TM, Cruvinel CA, Langoni H. Detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild animals in Brazil. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis. 2014; 20:41.
- de Camps S, Dubey JP, Saville WJA. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in zoo animals in selected zoos in the Midwestern United States. J. Parasitol. 2008; 94:648–653.
- Deem SL. Conservation medicine to one health: the role of the zoologic veterinarians, em: Miller RE, Fowler ME (Eds), Fowler’s Zoo and Wild Animals Medicine, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. 2015, 698-703.
- de Moura L, Bahía-Oliveira LM, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH. Waterborne -Toxoplasmosis, Brazil, from Field to Gene. Emerg Infect Dis. 2006; 12(2):326-329.
- de Negri D, Cirilo MB, Salvarani RS, Neves MF. Toxoplasmose em cães e gatos. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. VI(11). http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/Plnrs8cwK0Yc3nV_2013-6-13-15-16-0.pdf. Acessado em 16 outubro de 2017). 2008.
- Desmonts G, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. N. Engl. J. Med. 1974; 290:1110–1116.
- Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. J. Clin. Microbiol. 1980; 11:562–568.
- Devada K, Anandan R. Suitability of modified direct agglutination test (MDAT), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and avidin-biotin ELISA in the

- detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in chicken. Indian Vet. J. 2000; 77:196–198.
- Dietz HH, Henriksen P, Bille-Hansen V, Henriksen S. Toxoplasmosis in a colony of New World monkeys. Vet. Parasitol. 1997; 68:299–304.
- Djurković-Djaković O, Nikolić T, Robert-Gangneux F, Bobić B, Nikolić A. Synergistic effect of clindamycin and atovaquone in acute murine toxoplasmosis. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1999; 43:2240–2244.
- Dorrestein GM, Van der Hage MN, Zwart P. Diseases of passerines, especially canaries and finches. Proc. Annu. Conf. Assoc. Avian Vet. 1985; 53–70.
- Dowd K, Taylor M, Toribio JA, Hooker C, Dhand NK. Zoonotic disease risk perceptions and infection control practices of Australian veterinarians: call for change in work culture. Prev. Vet. Med. 2013; 111, 17–24, <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.04.002>.
- Dubey JP. Toxoplasmosis in cats. Feline pract. 1986; 16:12–26.
- Dubey JP. Toxoplasmosis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1994; 205:1593–1598.
- Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. Vet. Parasitol. 1996; 64:65–70.
- Dubey JP. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-20°C. J. Parasitol. 1997a; 83:946–949.
- Dubey JP. Validation of the specificity of the modified agglutination test for toxoplasmosis in pigs. Vet. Parasitol. 1997b; 71:307–310.
- Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 1998; 28:1019–1024.
- Dubey JP. Sources of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Until rates of congenital toxoplasmosis fall, control measures are essential. Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.). 2000; 321:127–128.
- Dubey JP. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. J. Parasitol. 2001; 87:215–219.
- Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet. Parasitol. 2002; 106:121–153.
- Dubey JP. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. Vet. Parasitol. 2004; 126:57–72.
- Dubey JP. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. Vet. Parasitol. 2006; 140:69–75.
- Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*— The first 100 years. J. Euk. Microbiol. 2008; 55:467–475.
- Dubey JP. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 2009a; 39:877–882.

- Dubey JP. *Toxoplasma gondii* Infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses and Public Health*. 2009b; 57:60–73.
- Dubey JP. *Toxoplasmosis of animals and humans*, second edition. CRC Press, Boca Rotan, Florida. 2010; 336 pp.
- Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Boca Rotan, Florida. 1988; 220 pp.
- Dubey JP, Brake RJ, Murrell KD, Fayer R. Effect of irradiation on the viability of *Toxoplasma gondii* cysts in tissues of mice and pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1986; 47:518–522.
- Dubey JP, Carpenter JL. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952-1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993a; 203:1556–1566.
- Dubey JP, Carpenter JL. Neonatal toxoplasmosis in littermate cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993b; 203:1546–1549.
- Dubey JP, Crutchley C. Toxoplasmosis in wallabies (*Macropus rufogriseus* and *Macropus eugenii*): blindness, treatment with atovaquone, and isolation of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 2008; 94:929–933.
- Dubey JP, Frenkel JK. Cyst-Induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozool.* 1972; 19:155–177.
- Dubey JP, Frenkel JK. Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. *Vet. Pathol. Online.* 1974; 11:350–379.
- Dubey JP, Frenkel JK. Feline Toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J. Protozool.* 1976; 23:537–546.
- Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int. J. Parasitol.* 2008; 38:1257–1278.
- Dubey JP, Lappin MR. *Toxoplasmosis and neosporosis. Infectious diseases of the dog and cat.* Saunders Elsevier, St. Louis. 2006; 754-767.
- Dubey JP, Lewis B, Beam K, Abbitt B. Transplacental toxoplasmosis in a reindeer (*Rangifer tarandus*) fetus. *Vet. Parasitol.* 2002; 110:131–135.
- Dubey JP, Linday DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cyst. *Clinical Microbiology Reviews.* 1998a; 11(2):267-299.
- Dubey JP, Lipscomb TP, Mense M. Toxoplasmosis in an elephant seal (*Mirounga angustirostris*). *J. Parasitol.* 2004; 90:410–411.
- Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OCH, Ashford DA, Thulliez P. Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. *J. Parasitol.* 1996; 82:438–443.
- Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OCH. Immunity to toxoplasmosis in pigs fed irradiated *Toxoplasma gondii* oocysts. *J. Parasitol.* 1998b; 84:749–752.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 1970a; 56:447–456.

- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. J. Exp. Med. 1970b; 132:636–662.
- Dubey JP, Odening K. Toxoplasmosis and related infections. In: Parasitic Diseases of Wild Animals. Second Edition. Samuel, B., Pybus, M., Kocan, A. M. (Eds.). Manson Publishing/Veterinary Press: London. 2001; 478–519.
- Dubey JP, Quinn WJ, Weinandy D. Fatal neonatal toxoplasmosis in a bobcat (*Lynx rufus*). J. Wildl. Dis. 1987; 23:324–327.
- Dubey JP, Thayer DW. Killing of different strains of *Toxoplasma gondii* tissue cysts by irradiation under defined conditions. J. Parasitol. 1994; 80:764–767.
- Dubey JP, Thulliez P, Weigel RM, Andrews CD, Lind P, Powell EC. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. Am. J. Vet. Res. 1995; 56:1030–1036.
- Duscher G, Leschnik M, Fuehrer HP, Joachim A. Wildlife reservoirs for vector-borne canine, feline and zoonotic infections in Austria. Int. J. Parasitol.: Parasites and Wildlife. 2015; 4:88–96.
- Ekanayake DK, Rajapakse RPVJ, Dubey JP, Dittus WPJ. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild toque macaques (*Macaca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. J. Parasitol. 2004; 90:870–871.
- Elmore SA, Jones JL, Conrad PA, Patton S, Lindsay DS, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. Trends in Parasitology. 2010; 26:190–196.
- el-Moukdad AR. Serological studies on prevalence of *Toxoplasma gondii* in Awassi sheep in Syria. Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift. 2001; 115:186–188.
- Epiphanyo S, Guimarães MA, Fedullo DL, Correa SH, Catão-Dias, JL. Toxoplasmosis in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and emperor marmosets (*Saguinus imperator*) in captivity. J. Zoo Wildl. Med. 2000; 31:231–235.
- Epiphanyo S, Sinhorini IL, Catão-Dias JL. Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. J. Comp. Pathol. 2003; 129:196–204.
- Epp T, Waldner C. Occupational health hazards in veterinary medicine: zoonoses and other biological hazards. Can. Vet. J. La Rev. Vétérinaire Can. 2012; 53:144–150.
- Ertug S, Okyay P, Turkmen M, Yuksel H. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. BMC Public Health. 2005; 5:66.
- Escajadillo A, Frenkel JK. Experimental toxoplasmosis and vaccine tests in *Aotus* monkeys. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1991; 44: 382–389.
- Esteban-Redondo I, Maley SW, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, Innes EA. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. Vet. Parasitol. 1999; 86:155–171.
- Esteves F, Aguiar D, Rosado J, Costa ML, de Sousa B, Antunes F, Matos O. *Toxoplasma gondii* prevalence in cats from Lisbon and in pigs from centre and south of Portugal. Vet. Parasitol. 2014; 200:8–12.

European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians (EAZWV). Transmissible Disease Fact Sheet. Sheet No. 126/2012. <http://www.eaza.net/activities/tdfactsheets/126%20Toxoplasmosis%20%28General%29.doc.pdf> Acessado em 15 de outubro de 2016. 2012.

Fa JE, Funk SM, O'Connell D. Zoo Conservation Biology. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 2011.

Fajardo HV, D'Ávila S, Bastos RR, Cyrino CD, Detoni ML, Garcia JL, Neves LB, Nicolay JL, Amendoeira MRR. Seroprevalence and risk factors of toxoplasmosis in cattle from extensive and semi-intensive rearing systems at Zona de Mata, Minas Gerais state, Southern Brazil. *Parasite & Vectors*. 2013; 6:191.

Fernández-Aguilar X, Ajzenberg D, Cabezón O, Martínez-López A, Darwich L, Dubey JP, Almería S. Fatal toxoplasmosis associated with an atypical *Toxoplasma gondii* strain in a bennett's wallaby (*Macropus rufogriseus*) in Spain. *Vet. Parasitol.* 2013; 196:523–527.

Ferreira J, Navarro I. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais selvagens: revisão. *Semina: Ci, Agr. Londrina*. 1994; 15(1):94–100.

Ferreira LC, Casartelli-Alves L, Figueiredo FB, da Silva RC, Langoni H, das Neves LB, Nicolau JL, Amendoeira MRR, Menezes RC. Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* pela detecção de anticorpos em galinhas-d'angola criadas extensivamente no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *R. bras. Ci. Vet.* 2013, 20(3): 140-143, jul./set. <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.070>.

Ferroglio E, Bosio F, Trisciuglio A, Zanet S. *Toxoplasma gondii* in sympatric wild herbivores and carnivores: epidemiology of infection in the Western Alps. *Parasites Vectors*. 2014; 7:196.

Figueiredo PP, Barbosa AS, Santos ALC, Bolais PF, Dardé ML, Amendoeira MRR. *Toxoplasma gondii*: infection among shelter and stray cats in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 2018, 27(3):401-408. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180061>.

Freitas LFM, Oliveira BJ, Cavalcanti BDM, Oliveira AR, Sobrinho EA. Perfil coproparasitológico de mamíferos silvestres em cativeiro em el estado de Pernambuco, Brasil. *Parasitología al Día*. 2001, 25:3-4, 1-6.

Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*. 1970; 167:893–896.

Frenkel JK. *Toxoplasma* in and around us. *BioScience*. 1973; 23:343–352.

Frenkel JK. Transmission of toxoplasmosis and the role of immunity in limiting transmission and illness. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990; 196:233–239.

Frenkel JK, Lindsay DS, Parker BB, Dobesh M. Dogs as possible mechanical carriers of *Toxoplasma*, and their fur as a source of infection of young children. *Int. J. Infect. Diseases*. 2003; 7:292-293.

Frenkel JK, Lindsay DS, Parker BB. Dogs as potential mechanical vectors of *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 53. 1995; 226–226.

Fowler, ME. Restraint and Handling of Wild and domestic Animal. 2^{da} Ed. Editorial Blackwell Publishing. 1995.

Fulton JD. Studies on agglutination of *Toxoplasma gondii*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1965; 59:694–704.

FUNASA. Manual de controle de roedores. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Brasília: Ed. Assessoria de Comunicação e Educação em Saúde/Ascom/FUNASA, Núcleo de Editoração e Mídias de Rede, Brasil. 2002.

G1 RS. <https://g1.globo.com/rs/rio-grande-do-sul/noticia/2018/10/20/numero-de-casos-confirmados-de-toxoplasmose-em-santa-maria-passa-de-800.ghtml>.

Acessado em 17 de dezembro de 2018. 2018.

García-Bocanegra I, Dubey JP, Martínez F, Vargas A, Cabezón O, Zorrilla I, Arenas A, Almería S. Factors affecting seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). Vet. Parasitol. 2010; 167:36–42.

García FMR, Fernández SJV, Heredia LM, Medina RS, Sánchez YIC, Quintana RA, Britton J, Fogarty AW. Seroprevalencia de anticuerpos IgG anti-Toxoplasma gondii en infantes de La Habana. Parasitaria. 2015; 73(1):1-10.

García I. Los riesgos laborales y la profesión veterinaria. Disponível em: <http://www.seguridad-laboral.es/prl-por-sectores/agroalimentario/los-riesgos-laborales-y-la-profesion-veterinaria>. Acessado em 23 de novembro de 2014. 2013.

Garcia JL, Navarro IT, Vidotto O, Gennari SM, Machado RZ, da Luz Pereira AB, Sinhorini IL. *Toxoplasma gondii*: comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. Exp. Parasitol. 2006; 113:100–105.

García VA, Marandino M. Zoológicos: que mensagem estamos passando? Em: Lozano M, Sánchez-Mora C. Evaluando la comunicación de la ciencia: Una perspectiva latinoamericana, México D.F., CYTED, AECI, DGDC-UNAM. 2008; p.83-94.

GAUCHAZH.SAÚDE. <https://gauchazh.clicrbs.com.br/saude/noticia/2019/01/toxoplasmose-bebe-de-cinco-meses-e-a-primeira-vitima-fatal-da-doenca-em-santa-maria-cjrtdvxsy00tu01q9vynqspip.html>. 2019.

Gavito DEG, Duque MVR, Iraola RC, Galindo LF, Rivero LR. Importancia de la educación médica en el diagnóstico de la toxoplasmosis en Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2003; 55(2):121-4.

Gennari SM, Ogrzewalska M, Soares HS, Saraiva DG, Pinter A, Lambruna MB, Dubey JP. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in birds from the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. Veterinary Parasitology. 2014; 200:193–197.

Goebel S, Gross U, Lüder CGK. Inhibition of host cell apoptosis by *Toxoplasma gondii* is accompanied by reduced activation of the caspase cascade and alterations of poly (ADP-ribose) polymerase expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3495–3505.

González J. Situación del diagnóstico de la Toxoplasmosis. Laboratorio de Referencia Nacional de Toxoplasmosis. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". 2012.

Gorman G. Algunos antecedentes sobre toxoplasma y toxoplasmosis. Monografía de medicina veterinaria. Facultad de ciencias veterinaria y pecuarias. Universidad de Chile. Disponível em:

<http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/5003/4888>. Acessado em 28 de fevereiro de 2017. 2010.

Goulart PRM, Brener B, Amendoeira MRR. Mamíferos de produção e seu papel na cadeia epidemiológica do *Toxoplasma gondii*—revisão. Veterinária Notícias, Uberlândia. 2013; 19(2):109-126.

Grandía R, Entrena AG, Cruz JH, Ginorio DG, Domenech IC, Alfonso AM, Perdomo LR, Chi LR, Burón MR. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en *Felis catus* en La Habana. Rev. Inv. Vet Perú. 2013a; 24(3):369–375.

Grandía R, Entrena AG, Cruz JH, Ginorio DG, Domenech IC, Alfonso AM, Perdomo LR, Chi LR, Burón MR. Validación de un sistema inmunoenzimático de inhibición para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii* en *Felis catus*. Revista electrónica REDVET. 2013b; 14(7):2–12.

Guerrero FM, Serrano-Martínez E, Tantaleán MV, Quispe MH, Casas GV. Identificación de parásitos gastrointestinales en primates no humanos del zoológico Parque Natural de Pucallpa, Perú. Revista Investigativa Veterinaria del Perú. 2012; 23(4):469-476. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v23i4.962>

Hartley WJ, Dubey JP. Fatal toxoplasmosis in some native Australian birds. J. Vet. Diagn. Invest. 1991; 3:167–169.

Hartley WJ, Dubey JP, Spielman DS. Fatal toxoplasmosis in koalas (*Phascolarctos cinereus*). J. Parasitol. 1990; 76:271–272.

Hill DE, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. ClinMicrobiol Infect. 2002; 8:634–640.

Hill DE, Benedetto SMC, Coss C, McCrary JL, Fournet VM, Dubey JP. Effects of time and temperature on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in enhanced pork loin. J. Food Protect. 2006; 69:1961–1965.

Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. Animal Health Research Reviews. 2005; 6:41–61.

Innes EA. Toxoplasmosis: Comparative species susceptibility and host immune response. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 1997; 20:131–138.

Innes EA, Bartley PM, Maley S, Katzer F, Buxton D. Veterinary vaccines against *Toxoplasma gondii*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2009; 104:246-251.

Innes EA. Palestra Magna do XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Anais do XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Disponível em:<https://www.xxcbpv.com.br/images/cbpv2018/docs/palestras/elisabeth-innes.pdf>. Acessado em 02 de outubro de 2018. 2018

Ippen R, Kozojed V, Jíra J. Toxoplasmosis in zoo animals. Folia Parasitologica. 1980; 28:109–115.

Isaac-Renton J, Bowie WR, King A, Irwin GS, Ong CS, Fung CP, Shokeir MO, Dubey JP. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Applied and Environmental Microbiology. 1998; 64:2278–2280.

- Isamida T, Tanaka T, Omata Y, Yamauchi K, Shimazaki KI, Saito A. Protective effect of lactoferricin against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J. Vet. Med. Sci.* 1998; 60: 241–244.
- Jardine JE, Dubey JP. Congenital toxoplasmosis in a Indo-Pacific bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*). *J. Parasitol.* 2002; 88:197–199.
- Johnson AM, Roberts H, Statham P, Munday BL. Serodiagnosis of acute toxoplasmosis in macropods. *Vet. Parasitol.* 1989; 34:25–33.
- Johnson-Delaney CA. Medical problems of pet wallabies. *Exotic. Pet. Practice.* 2000; 5:89–92.
- Johnson-Delaney CA. Parasites of captive nonhuman primates. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice.* 2009; 12:563-581.
- Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Exp. Parasitol.* 2010; 124:10–25.
- Juan-Sallés C, Prats N, Marco AJ, Ramos-Vara JA, Borrás D, Fernández J. Fatal acute toxoplasmosis in three golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *J. Zoo Wildl. Med.* 1998; 29:55–60.
- Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of domestic animals*, 4th edition. San Diego, Academic Press. 1993.
- Kapperud G, Jennum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Results of a prospective case-control study in Norway. *Am. J. Epidemiol.* 1996; 144:405–412.
- Karanis P, [Aldeyarbi HM.](#), Mirhashemi ME, [Khalil KM.](#) The impact of de waterborne transmission of *Toxoplasma gondii* and analysis efforts for water detection: An overview and update. [Environ Sci Pollut Res.](#) 2013. Jan. 20(1):86-99.
- Kenny DE, Lappin MR, Knightly F, Baier J, Brewer M, Getzy DM. Toxoplasmosis in Pallas' cats (*Otocolobus felis manul*) at the Denver Zoological Gardens. *J. Zoo Wildl. Med.* 2002; 33:131–138.
- Khan IA, Matsuura T, Kasper LH. Activation-mediated CD4+ T cell unresponsiveness during acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Int. Immunol.* 1996; 8:887–896.
- Kniel KE, Lindsay DS, Sumner SS, Hackney CR, Pierson MD, Dubey JP. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. *J. Parasitol.* 2002; 88:790–793.
- Knowles JM. Zoos and a century of change. *International Zoo Yearbook.* 2003; 28:28-34.
- Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrews CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J. Food Protect.* 1991; 54:687–690.
- Kreeger TJ, Arnemo JM. *Handbook of Wildlife Chemical Immobilization*. 4th Ed. Swedish University of Agricultural Sciences. 2012.
- Labelle P, Dubey JP, Mikaelian I, Blanchette N, Lafond R, St-Onge S, Martineau D. Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in lynx (*Lynx canadensis*)

- and bobcats (*Lynx rufus*) from Québec, Canada. *J. Parasitol.* 2001; 87:1194–1196.
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-174
- Lappin MR. Update on the diagnosis and management of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Topics in Companion Animal Medicine.* 2010; 25:136–141.
- Leighty JC. Strategies for control of toxoplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990; 196:281–286.
- Levine ND, Corliss JO, Cox FEG, Deroux G, Grain J, Honigberg BM, Leedale GF, Loeblich AR, Lom J, Lynn D, Merinfeld EG, Page FC, Poljansky G, Sprague V, Vavra J, Wallace FG. A Newly Revised Classification of the Protozoa*. *J. Protozool.* 1980; 27(1):37-58.
- Li K, Wang M, Zhang H, Lei Z, Zhang L, Luo H, Qiu G, Mehmood K, Shahzad MLJ. Epidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in native Tibetans in Tibet, China. *Acta Parasitologica.* 2017; 62(3):529–532.
- Lim LAY, Ngui R, Shukri J, Rohela M, Naim MRH. Intestinal parasites in various animals at a zoo in Malaysia. *Veterinary Parasitology.* 2008, 157(1-2) 154-159.
- Lindquist HAD, Bennett JW, Hester JD, Ware MW, Dubey JP, Everson WV. Autofluorescence of *Toxoplasma gondii* and related coccidian oocysts. *J. Parasitol.* 2003; 89:865–867.
- Lindsay DS, Collins MV, Ajzenberg D, Flick GJ, Dubey JP. Effects of High-Pressure Processing on *Toxoplasma gondii* tissue cysts in ground pork. *J. Parasitol.* 2006; 92:195–196.
- Lindsay DS, Collins MV, Jordan CN, Flick GJ, Dubey JP. Effects of high pressure processing on infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for mice. *J. Parasitol.* 2005; 91:699–701.
- Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Wetch CN, Rosypal AC, Flick GJ, Lindquist A, Dubey JP. Survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *J. Parasitol.* 2004; 90:1054–1057.
- Lindsay DS, Dubey JP, Butler JM, Blagburn BL. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Vet. Parasitol.* 1997. 73:27–33.
- Lindsay DS, Gasser RB, Harrigan KE, Madill DN, Blagburn BL. Central nervous system toxoplasmosis in roller canaries. *Avian Dis.* 1995; 39:204–207.
- Lindsay DS, Gasser RB, Harrigan KE, Madill DN, Blagburn BL. Central nervous system toxoplasmosis in roller canaries. *Avian Dis.* 1995; 39:204–207.
- Lopes AP, Cardoso L, Rodrigues M. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. *Vet. Parasitol.* 2008; 155:184–189.
- Lopes AP, Dubey JP, Moutinho O, Gargaté MJ, Vilares A, Rodrigues M, Cardoso L. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in women from the North of Portugal in their childbearing years. *Epidemiol. Infect.* 2011a; 31:1–6.

Lopes AP, Santos H, Neto F, Rodrigues M, Kwok OCH, Dubey JP, Cardoso L. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from northeastern Portugal. J. Parasitol. 2011b; 97:418–420.

Lopes AP, Sargo R, Rodrigues M, Cardoso L. High seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild animals from Portugal. Parasitol. Res. 2011c; 108:1163–1169.

Lopes CCH, Berto BP. Aspectos associados à toxoplasmose: uma referência aos principais surtos no Brasil. Saúde & Amb. Rev., Duque de Caxias. 2012; 7(2):1-7.

Luciano DM, Menezes RC, Ferreira LC, Nicolau JL, das Neves LB, Luciano RM, Dahroug MAA, Amendoeira MRR. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cattle and pigs slaughtered, State of Rio de Janeiro. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2011a; 20(4):350–353.

Luciano DM, Menezes RC, Ferreira LC, Nicolau JL, das Neves LB, Luciano RM, Dahroug MAA, Amendoeira MRR. Soroepidemiologia da toxoplasmose em caprinos e ovinos de três municípios de Estado de Rio de Janeiro. Rev. Bras. Parasitol. 2011b; Vet. 131(7):569–574.

Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clinical Infectious Diseases. 1992; 15:211–222.

Lynch MJ, Obendorf DL, Statham P, Reddacliff GL. An evaluation of a live *Toxoplasma gondii* vaccine in Tammar wallabies (*Macropus eugenii*). Aust. Vet. J. 1993; 70:352–353.

Machado I. Conhecimento e prevenção da toxoplasmose na grávida – contribuição para o estudo da toxoplasmose em Portugal. Dissertação de mestrado, Porto, Portugal: Faculdade de Medicina, Universidade do Porto. 2005; 130 pp.

Magalhães FJR, da Silva JG, Ribeiro-Andrade M, Júnior JWP, Mota RA. High prevalence of toxoplasmosis in free-range chicken of the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. Acta Tropica. 2016, 159:58–61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.034>.

Martínez R, Rodríguez D, Rodríguez M, Ginorio D. Seroprevalencia de infección por *Toxoplasma gondii* en embarazadas del municipio Lisa. Ciudad de la Habana. Rev Guatem Parasitol y Medic Trop. 2006; 21(1):10–14.

Marujo RB, Langoni H, Ullmann LS, Pillizzaro M, Neto RND, Camossi LG, Teixeira RF, Nunes AV, da Silva RC, Menozzi BD. *Toxoplasma gondii* antibodies and related risk factors in mammals at Soracaba zoo, São Paulo, Brazil. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 2017, 38(4) suplemento 1:2845-2850.

Mason RW, Hartley WJ, Dubey JP. Lethal toxoplasmosis in a little penguin (*Eudyptula minor*) from Tasmania. J. Parasitol. 1991; 77:328.

Mason S, Quinnell RJ, Smith JE. Detection of *Toxoplasma gondii* in lambs via PCR screening and serological follow-up. Vet. Parasitol. 2010; 169:258–263.

Mathews PD, da Silva VMF, Rosas FCW, d’Affonseca JAN, Lazzarini SM, Ribeiro DC, Dubey JP, Vasconcellos AS, Gennari SM. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Leptospira spp.* in manatees (*Trichechus inunguis*) of the Brazilian Amazon. J. Zoo Wildl. Med. 2012; 43:85–88.

- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerg, Infect. Dis.* 1999; 5:607–625.
- Melterzer, A; Burroughs, R. 2006. Chemical and physical restraint of wild animal. Zimbabwe Veterinary Association Wildlife Group and International Wildlife Veterinary Services. South Africa.
- Mendes-de-Almeida F, Labarthe N, Guerrero J, Faria MCF, Branco AS, Pereira CD, Barreira JD, Pereira MJS. Follow-up of the health conditions of an urban colony of free-roaming cats (*Felis catus* Linnaeus, 1758) in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology.* 2007; 147:9–15.
- Mikaelian I, Boisclair J, Dubey JP, Kennedy S, Martineau D. Toxoplasmosis in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St Lawrence Estuary: two case reports and a serological survey. *J. Comp. Pathol.* 2000; 122:73–76.
- Millán J, Cabezón O, Pabón M, Dubey JP, Almería S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in feral cats (*Felis silvestris catus*) in Majorca, Balearic Islands, Spain. *Vet. Parasitol.* 2009; 165:323–326.
- Millar PR, Alves FMX, Teixeira VQ, Vicente RT, Menezes EM, Sobreiro LG, Pereira VLA, Amendoeira MRR. Occurrence of infection with *Toxoplasma gondii* and factors associated with transmission in broiler chickens and laying hens in different raising systems. *Pesq. Vet. Bras.* 2012, 32(3):231-236.
- Miller DS, Mitchel GF, Biggs B, McCracken H, Myroniuk P, Hewish M. Agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* insert from captive eastern barred bandicoots in Australia. *J. Wildlife Disease.* 2000; 36(2):8–32.
- Miller DS, Faulkner C, Patton S. Detection of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in juvenile grey kangaroos, *Macropus giganteus giganteus*. *J. Zoo Wildl. Med.* 2003; 34:189–193.
- Miller M, Conrad P, James ER, Packham A, Toy-Choutka S, Murray MJ, Jessup D, Grigg M. Transplacental toxoplasmosis in a wild southern sea otter (*Enhydra lutris nereis*). *Vet. Parasitol.* 2008; 153:12–18.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int. J. Parasitol.* 2002; 32:997–1006.
- Miller NL, Frenkel JK, Dubey JP. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J. Parasitol.* 1972; 58:928–937.
- Mishima M, Xuan X, Yokoyama N, Igarashi I, Fujisaki K, Nagasawa H, Mikami T. Recombinant feline herpesvirus type 1 expressing *Toxoplasma gondii* ROP2 antigen inducible protective immunity in cats *Parasitol. Res.* 2002; 88:144–149.
- Mitchell SM, Richardson DJ, Lindsay DS. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in striped skunks (*Mephitis mephitis*), opossums (*Didelphis virginiana*), and raccoons (*Procyon lotor*) from Connecticut. *J. Parasitol.* 2006; 92:664–665.
- Mitchell SM, Zajac AM, Davis WL, Lindsay DS. Efficacy of ponazuril in vitro and in preventing and treating *Toxoplasma gondii* infections in mice. *J. Parasitol.* 2004; 90:639–642.

- Montoya JG. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. J. Infect Dis. 2002; 185(suppl 1):S73–82.
- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet. 2004; 363:1965–1976.
- Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* Infection during pregnancy. Clin. Infect. Dis. 2008; 47:554–566.
- Morais RAPB, Freire ABC, Barbosa DRL, da Silva LCT, Pinheiro AF, da Costa SS, Ramos FLP, Bichara CNC, Lima LJB, da Silva AV, de Souza SRP, Neto LPP, Gonçalves NV, Póvoa MM, do Carmo EL. Surto de toxoplasmose aguda no Município de Ponta de Pedras, Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil: características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. Rev Pan-Amaz Saúde. 2016; 7(esp):143-152.
- Moretti LA, Ueno TE, Ribeiro MG, Aguiar DM, Paes AC, Pezerico SB, da Silva AV. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 2002, 23(1):85-91, jan./jun.
- Morrisette NS, Sibley LD. Cytoskeleton of apicomplexan parasites. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2002; 66(1):21-38.
- Mortensen PB, Nørgaard-Pedersen B, Waltoft BL, Sørensen TL, Hougaard D, Yolken RH. Early infections of *Toxoplasma gondii* and the later development of schizophrenia. Schizophrenia Bulletin. 2007; 33:741–744.
- Mucker EM, Dubey JP, Lovallo MJ, Humphreys JG. Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the Pennsylvania bobcat (*Lynx rufus rufus*). J. Wildl. Dis. 2006; 42:188–191.
- Müller GCK, Greinert JÁ, Silva FHH. Frequência de parasitas intestinais em felinos mantidos em zoológicos. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2005; 57(4): 559-56; <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352005000400021>
- Murata K. A serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in zoo animals and other animals. Nihon Juigaku Zasshi. Japanese J. Vet. Sci. 1989; 51:935–940.
- Nassar ALF. Animais silvestres e o propósito da estimação. MPG Jurídico. 2013; 1: 40-47.
- Navarro DM, Chávez AV, Pinedo RV, Muñoz KD. Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* em mamíferos del orden carnívora y primates mantenidos em cautiverio. Rev. Inv. Vet Perú. 2015, 26(3): 497-508. <http://dx.doi.org/1015381/rivep.v26i3.11175>.
- Nicolle C, Manceaux L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organisms voisins) du gondi. C. R. Seances Acad. Sci. 1908; 147:763-766.
- Nicolle C, Manceaux L. Sur une protozoaire nouveau du gondi. C. R. Seances Acad. Sci. 1909; 148:369-372.
- Ntafis V, Xylouri E, Diakou A, Sotirakoglou K, Kritikos I, Georgakilas E, Menegatos I. Serological survey of antibodies against *Toxoplasma gondii* in organic sheep and goat farms in Greece. J.-Hellenic Vet. Med. Soc. 2007; 58:22-33.

Nunes AL, Cruz ML, Cortopassi SR. Anestesiología. In: Cubas ZS, Silva JC, Catão-Dias .L. Tratada de Animais Selvagens: Medicina Veterinária. Editorial Roca. São Paulo. 2007, 1040 – 1067.

Obendorf DL, Munday BL. Toxoplasmosis in wild Tasmanian wallabies. Aust. Vet. J. 1983; 60:62.

Organización Mundial de Sanidad Animal. OIE. Enfermedades de los animales silvestres. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/WD_ES.pdf. Acessado em 12 de outubro de 2018. 2013a.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Plan de Estudios Básico de Formación Veterinaria Directrices de la OIE. Disponível em: http://www.oie.int/Plan_de_Estudios_Basico_de_Formacion_Veterinaria.pdf. Acessado em 27 de março de 2017. 2013b

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Informe de la reunión del grupo de trabajo sobre las enfermedades de los animales salvajes. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/WD_ES.pdf. Acessado em 5 de setembro de 2016. 2015.

OIE. Organização Mundial de Sanidade Animal. Código de Animales Terrestres. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.09.09_Toxoplasmosis.pdf. Acessado em 02 de outubro de 2018. 2017.

Omata Y, Satake M, Maeda R, Saito A, Shimazaki K, Uzuka Y, Tanabe S, Sarashina T, Mikami T, Yamauchi K. Reduction of the infectivity of *Toxoplasma gondii* and *Eimeria stiedai* sporozoites by treatment with bovine lactoferricin. J. Vet. Med. Sci. 2001; 63:187–190.

Owen MR, Clarkson MJ, Trees AJ. Diagnosis of *Toxoplasma* abortion in ewes by polymerase chain reaction. Vet. Rec. 1998; 142:445–448.

Pan M, Lyu C, Zhao J, Shen B. Sixty Years (1957–2017) of Research on Toxoplasmosis in China—An Overview. Front. Microbiol. 2017; 8:1825.

Panadero R, Panceira A, López C, Vázquez L, Paz A, Díaz P, Dacal V, Cienfuegos S, Fernández G, Lago N, Díez-Bãnos P, Morrondo P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). Res. Vet. Sci. 2010; 88:111–115.

Parameswaran N, Thompson RCA, Sundar N, Pan S, Johnson M, Smith NC, Grigg ME. Non-archetypal type II-like and atypical strains of *Toxoplasma gondii* infecting marsupials of Australia. Int. J. Parasitol. 2010; 40:635–640.

Pas A, Dubey JP. Fatal toxoplasmosis in Sand Cats (*Felis margarita*). J. Zoo Wildl. Med. 2008; 39:362–369.

Patrick PG, Matthew CE, Ayers DF, Tunnicliffe SD. Conservation an education: prominent themes in zoos mission statements. The Journal of Environmental Education. 2007; 38(3):53-60.

Patton S. An overview of avian coccidia. Scientific Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians, Nashville, TN. 1993; pp 47-51

- Patton S, Johnson SL, Loeffler DG, Wright BG, Jensen JM. Epizootic of toxoplasmosis in kangaroos, wallabies, and potaroos: possible transmission via domestic cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986; 189:1166–1169.
- Pena HFJ, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* infection in cats from Sao Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Res Vet Sci.* 2006; 81:58–67.
- Pinkerton H, Weinman D. Toxoplasmosis infection in man. *Arch Pathol.* 1940; 30(1): 374- 392
- Portas TJ. Toxoplasmosis in macropodids: a review. *J. Zoo Wildl. Med.* 2010; 41:1–6.
- Potkay S. Diseases of the *Callitrichidae*: a review. *J. Med. Primatol.* 1992, 21:189–236.
- Quist CF, Dubey JP, Luttrell MP, Davidson WR. Toxoplasmosis in wild turkeys: a case report and serologic survey. *J. Wildl. Dis.* 1995; 31:255–258.
- Ramírez JR, Chávez AV, Casas EA, Rosadio RA, Falcón NP. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas de comunidades de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev. investig. vet. Perú.* 2005; 16(2):169–174.
- Reperant LA, Hegglin D, Tanner I, Fischer C, Deplazes P. Rodents as shared indicators for zoonotic parasites of carnivores in urban environments. *Parasitology.* 2009; 136:329–337.
- Resendes AR, Almería S, Dubey JP, Obón E, Juan-Sallés C, Degollada E, Alegre F, Cabezón O, Pont S, Domingo M. Disseminated toxoplasmosis in a Mediterranean pregnant Risso's dolphin (*Grampus griseus*) with transplacental fetal infection. *J. Parasitol.* 2002; 88:1029–1032.
- Riley SPD, Foley J, Chomel B. Exposure to feline and canine pathogens in bobcats and gray foxes in urban and rural zones of a national park in California. *J. Wildl. Dis.* 2004; 40:11–22.
- Rinaldi L, Scala A. Toxoplasmosis in livestock in Italy: an epidemiological update. *Parassitologia.* 2008; 50:59–61.
- Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews.* 2012; 25(2):264-296.
- Robin C, Bettridge J, McMaster F. Zoonotic disease risk perceptions in the British veterinary profession. *Preventive Veterinary Medicine.* 2017; 136: 39–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pveter.2017.05.001>.
- Robinette C, Saffran L, Ruple A, Deem SL. Zoos and public health: A partnership on the One Health frontier. *One Health.* 2017. 3:1-4
- Rodríguez, MS. 2013. Diagnóstico de la Toxoplasmosis, Reunión de Zoonosis. Laboratorio Nacional de Toxoplasma. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri".
- Rodríguez MS, Rodríguez D, Ginorio D, Martínez R, Casanova P, Fraga J, Cox R. Primoinfección por *Toxoplasma gondii* durante el embarazo. *Rev Panam Infectol.* 2006; 8(3):43–46.

- Rosado F, Medina I. Importancia y factibilidad del diagnóstico ambiental de *Toxoplasma gondii* en Cuba. Rev Cubana Salud Pública. 2014; 40(2).
- Roth A. Parasita da areia do gato está destruindo à foca mais rara da Terra. National Geographic. Disponível em: <https://www.nationalgeographicbrasil.com/animais/2018/07/parasita-areia-gato-toxoplasmose-doenca-foca-rara-havai>. Acessado em 01 de outubro de 2018. 2018.
- Ruiz A, Frenkel JK. *Toxoplasma gondii* in Costa Rican cats. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1980; 29:1150–1160.
- Salomão M. Toxoplasmose em caprinos do estado do Paraná e comparação de testes para sorodiagnóstico. Tesis presentada para la obtención del título de Doctor en Ciencia Animal. Londrina. Paraná. Brasil. 2013.
- Samad A, Islam R, Dey BC Alam M. Effects of corticosteroids in stray cats with natural antibodies to *Toxoplasma gondii*. J. Protozool. Res. 1997; 7: 1–8.
- Sánchez R, Góngora W, Cobos D, Goya Y, Miranda A. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en donantes de sangre en la provincia de Guantánamo. Rev Cubana Invest Bioméd. 2012; 43(1).
- Sanfelice RA, da Silva SS, Alvarenga DS, Bosqui LR, Miranda MM, Alcantara GD, Pavanelli WR, Conchon-Costa I. Estatinas como alternativa terapêutica para a toxoplasmose. SaBios: Ver. Saúde e Biol. 2015; 10(3):113-118.
- Santos ALC, Echarte GV, Augusto AM, Balthazar DA, Magalhães BSN, Pereira PF, Arruda IF, Ribeiro LJBB, Silva VL, Amendoeira MRR. Occurrence of antibodies IgG anti-*Toxoplasma gondii* in ducks (*Cairina moschata*) of Fundation RIOZOO, Rio de Janeiro, Brasil. Anais XXV Congresso Brasileiro de Parasitologia, Búzios, RJ. 2017. Disponível em: http://cbparasitologia2017.com.br/wp-content/uploads/2017/08/CBP17_paper_345.pdf. Accesado em: 01 de outubro de 2018.
- Santos HLPL, Freire RL, Merlini LS, Sposito PH, Lima JS, Navarro IT. Occurrence of infection by *Toxoplasma gondii* in slaughtered swine in the northwestern region o Paraná, Brazil. Semina: Ciências Agrárias (Londrina). 2015; 36(3) suplemento 1:1999–2004.
- Santos OS, Albuquerque GR, da Silva VMF, Martin AR, Marvulo MFV, Souza SLP, Ragozo AMA, Nascimento CC, Gennari SM, Dubey JP, Silva JCR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-living Amazon River dolphins (*Inia geoffrensis*) from central Amazon, Brazil. Vet. Parasitol. 2011; 183: 171–173.
- Schares G, Pantchev N, Barutzki D, Heydorn AO, Bauer C, Conraths FJ. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. Int. J. Parasitol. 2005; 35:1525–1537.
- Schlüter D, Däubener W, Schares G, Groß U, Pleyer U, Lüder C. Animals are key to human toxoplasmosis. Int. J. Med. Microbiol. 2014; 304:917–929.
- Schoondermark-Van de Ven E, Galama J, Vree T, Camps W, Baars I, Eskes T, Meuwissen J, Melchers W. Study of treatment of congenital *Toxoplasma gondii*

- infection in rhesus monkeys with pyrimethamine and sulfadiazine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995; 39:137–144.
- Schoondermark-Van de Ven E, Melchers W, Camps W, Eskes T, Meuwissen J, Galama J. Effectiveness of spiramycin for treatment of congenital *Toxoplasma gondii* infection in rhesus monkeys. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1994; 38:193–1936.
- Schwartzman J, Maffia A, Crusius ME, Brunhoffer A. Congenital toxoplasmosis. *J. Pediatr*. 1948; 33:66–73.
- Sedlák K, Bártoová E, Literák I, Vodička R, Dubey JP. Toxoplasmosis in nilgais (*Boselaphus tragocamelus*) and a saiga antelope (*Saiga tatarica*). *J. Zoo Wildl. Med*. 2004; 35:530–533.
- Sevivas TV. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em grávidas da região de Lisboa e Vale do Tejo e estudo dos fatores de risco. Dissertação de Mestrado. 2011.
- Silva JCR. Toxoplasmose. In: Cubas, ZS; Silva, JCR; Catão-Dias, JL. (Eds) *Tratado de Animais Selvagens–Medicina Veterinária*. São Paulo. Primeira edição: Roca. 2007; 48:768–784.
- Smith JL. Documented outbreaks of toxoplasmosis: transmission of *Toxoplasma gondii* to humans. *J. Food Protect*. 1993; 56:630–639.
- Smith KE, Fischer JR, Dubey JP. Toxoplasmosis in a bobcat (*Felis rufus*). *J. Wildl. Dis*. 1995; 31:555–557.
- Smith DD, Frenkel JK. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. *J. Wildl. Dis*. 1995; 31:15–21.
- Sobanski V, Ajzenberg D, Delhaes L, Bautin N, Just N. Severe toxoplasmosis in immunocompetent hosts: be aware of atypical strains. *Am. J Resp. Crit. Care Med*. 2013; 187:1143–1145.
- Sobral CA, Amendoeira MRR, Teva A, Patel BN, Klein CH. Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous brazilian populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2005, 72(1):37–41.
- Sobrin L, Kump LI, Foster CS. Intravitreal clindamycin for toxoplasmic retinochoroiditis. *Retina*. 2007; 27:952–957.
- Sobrin R, Cabezón O, Millán J, Pabón M, Arnal MC, Luco DF, Gortázar C, Dubey JP, Almeria S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild carnivores from Spain. *Vet. Parasitol*. 2007; 148:187–192.
- Sorte ECB, de Almeida ABPD, da Cruz FACS, Gasparetto ND, de Godoy I, Dutra V, Amendoeira MRR, Sousa VRF. Serological and molecular detection of *Toxoplasma gondii* in dogs of urban and rural areas of Cuiaba, Mato Grosso. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*. 2015; 36(6): 3705-3712.
- Sós E, Szigeti A, Fok E, Molnár V, Erdélyi K, Perge E, Biksi I, Gál J. Toxoplasmosis in Tammar wallabies (*Macropus eugenii*) in the Budapest Zoo and Botanical Garden (2006-2010). *Acta Vet. Hung*. 2012; 60:361–370.

Souza W, Martins-Duarte ES, Lemgruber L, Attias M, Vommaro RC. Organização estrutural do taquizoítio de *Toxoplasma gondii*. Scientia Medica, Porto Alegre. 2010; 20(1):131-143.

Spencer JA, Joiner KS, Hilton CD, Dubey JP, Toivio-Kinnucan M, Minc JK, Blagburn BL. Disseminated toxoplasmosis in a captive ring-tailed lemur (*Lemur catta*). J. Parasitol. 2004; 90:904–906.

Splendore A. Un nuovo protozoa parassita de conigli encontrado nelle lesioni anatomiche d.une malattiache ricorda in moltoprinti il kalazar dell.uomo: nóta preliminaire pel. Revista da Sociedade Científica de São Paulo. 1908; 3: 109-112.

Sroka J, Cencek T, Ziomko I, Karamon J, Zwolinski J. Preliminary assessment of ELISA, MAT and LAT for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2008; 52:545–549.

Sroka J, Chmielewska-Badora J, Dutkiewicz J. *Ixodes ricinus* as a potential vector of *Toxoplasma gondii*. Ann. Agric. Environ. Med. 2003;10:121–123.

Stovar J. Artiodactylids. Toxoplasmosis in captive ungulates. In Zoo & Wild animal medicine: current therapy 3. Fowler M. E. (ed). WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. 1993; 511-513.

Suárez, Y; Fabrè, Y; Soca, M; Fuentes, M; Cabrera, C; Álvares, J. 2006. Metodología para el análisis de algunos indicadores de riesgo asociado al manejo territorial de las zoonosis. Revista Electrónica de Veterinaria. 7(9).

Suárez, Y, Fabre, Y, Soca, M; Fuentes, M. 2008. Propuesta de acciones de reducción de riesgos de servicios veterinarios–servicios de salud pública–intersectoriales. Resultado Terminado base Técnica para el análisis, 28. Manejo y reducción de Riesgos de presentación de enfermedades zoonóticas y transmitida por alimentos (ETA) asociados o no a la ocurrencia de desastres naturales hidrometeorológico. La Habana, Cuba: informe de Proyecto 2008. Proyecto Territorial CITMA/Habana.

Switzer AD, McMillan-Cole AC, Kasten RW, Stuckey MJ, Kass PH, Chomel BB. *Bartonella* and *Toxoplasma* infections in stray cats from Iraq. Am J Trop Med. Hyg. 2013; 89:1219–24.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int. J. Parasitol. 2000; 30:1217-1258.

Teva A; Fernandez JCC; Silva VL. Imunologia. In: Molinaro EM; Caputo LFF; Amendoeira MRR. Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC; 2009. p. 19-124.

Tiao N, Darrington C, Molla B, Saville WJ, Tilahun G, Kwok OC, Gebreyes WA, Lappin MR, Jones JL, Dubey JP. An investigation into the seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, *Bartonella* spp., feline immunodeficiency virus (FIV), and feline leukaemia virus (FeLV) in cats in Addis Ababa, Ethiopia. Epidemiol Infect. 2013; 141:1029–33.

Torres ACD, D’Aparecida NS, Haas DJ. Principais zoonoses víricas, fúngicas e parasitárias de aves domésticas e silvestres. Veterinária em foco. 2015; 3(1):44-55.

- Torrey EF, Bartko JJ, Lun ZR, Yolken RH. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin*. 2007; 33:729-736.
- Torrey EF, Yolken RH. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. *Emerg, Infect. Dis.* 2003; 9:1375-1380.
- Turčeková Ľ, Hurníková Z, Spišák F, Miterpáková, M, Chovancová B. *Toxoplasma gondii* in protected wildlife in the Tatra National Park (TANAP), Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2014; 21:235-238.
- Tzanidakis N, Maksimov P, Conraths FJ, Kiossis E, Brozos C, Sotiraki S, Schares G. *Toxoplasma gondii* in sheep and goats: seroprevalence and potential risk factors under dairy husbandry practices. *Vet. Parasitol.* 2012; 190:340-348.
- Ullmann LS, da Silva RC, de Moraes W, Cubas ZS, dos Santos LC, Hoffmann JL, Moreira N, Guimaraes AM, Montaño P, Langoni H, Biondo AW. Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Southern Brazil. *Vet. Parasitol.* 2010; 172:144-146.
- Valença RMB, Mota RA, Anderlini GA, Faria EB, Cavalcanti EFSTF, Albuquerque PPF, Guerra MMP. Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2011; 31(2):121–126.
- Van Loon AM. Laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *International Ophthalmology*. 1989; 13:377–381.
- Vickers MC, Hartley WJ, Mason RW, Dubey JP, Schollam L. Blindness associated with toxoplasmosis in canaries. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992; 200:1723–1725.
- Vollaire MR, Radecki SV, Lappin MR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 2005; 66:874–877.
- WAZA. Understanding Animals and Protecting Them- About the World Zoo and Aquarium Conservation Strategy. 2006.
- Weiss LM, Kim K. *Toxoplasma gondii*: the model Apicomplexan. Perspectives and methods. Academic Press. 2011; 800pp.
- West G, Hesrd P, Caulkett N. Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia. Editorial Blackwell Publishing. 2007; 1230 – 1245.
- Wilson CB, Remington JS, Stagno S, Reynolds DW. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. *Pediatrics*. 1980, 66:767–774.
- Wolf BA. Toxoplasmosis. In *Zoo and Wild Animal Medicine*. Fowler ME, Miller RE. (eds). Saunders, St. Louis, Missouri. 2003; Pp. 745–749.
- Wong MM, Kozek WJ. Spontaneous toxoplasmosis in macaques: a report of four cases. *Lab. Anim. Sci.* 1974; 24:273-278.
- Work TM, Massey JG, Lindsay DS, Dubey JP. Toxoplasmosis in three species of native and introduced Hawaiian birds. *J. Parasitol.* 2002; 88:1040-1042.

Work TM, Massey JG, Rideout BA, Gardiner CH, Ledig DB, Kwok OCH, Dubey JP. Fatal toxoplasmosis in free-ranging endangered 'alala from hawaii. *J. Wildl. Dis.* 2000; 36:205-212.

Zanetti WDL. Transmissão sexual de *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em ovinos (*Ovis aries*). Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva). 2010.

Zhang SY, Wei MX, Zhou ZY, Yu JY, Shi XK. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sera of rare wildlife in the Shanghai Zoological Garden, People's Republic of China. *Parasitol. Int.* 2000; 49:171–174.

Zhou P, Chen ZG, Li HL, Zheng HH, He SY, Lin RQ, Zhu XQ. *Toxoplasma gondii* infection in humans in China. *Parasites & Vectors.* 2011; 4:165.

8. APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional, entre os zoológicos: Parque Zoológico Nacional (Cuba) e do RioZOO (Brasil).

Pesquisadoras Responsáveis: Dra Ma Regina R. Amendoeira e Me Ginette Villar Echarte
Laboratório de Toxoplasmose- Instituto Oswaldo Cruz/ IOC- Fiocruz
Telefones para contato: 25621844/ 25621839

Nome do participante: _____ **Nº** _____

O(A) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar deste projeto de pesquisa que visa obter mais conhecimentos sobre a toxoplasmose. Sua participação será responder a um questionário sobre o seu conhecimento sobre a infecção pelo *Toxoplasma gondii*, a sua atividade no RioZoo e quais os animais que o(a) senhor(a) tem contato. O procedimento consistirá na aplicação de um questionário, seguida de coleta de seu sangue e distribuição gratuita de material informativo sobre a toxoplasmose. A coleta de de sangue será realizada com material estéril, por profissional de saúde capacitado. O volume de sangue, 3 a 5 mL (uma colher de sobremesa), retirado não causará danos ou risco para o voluntário. Os possíveis desconfortos, casos ocorrerem, são relacionados a problemas durante a coleta como dor local e hematoma, mas que regredem de 3 a 5 dias.

O questionário será aplicado em entrevista de forma reservada, sem exposições ou constrangimentos perante os colegas de trabalho e/ou pesquisadoras. O material obtido será arquivado no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses do IOC/Fiocruz, sob a guarda das pesquisadoras responsáveis pelo projeto. As pesquisadoras ficarão a disposição para sanar qualquer dúvida acerca do assunto.

Sua participação é voluntária, podendo a qualquer momento retirar seu consentimento sem que isso traga algum prejuízo. Não haverá custos ou qualquer outro tipo de ressarcimento ao participante desta pesquisa. Os dados que tenham relação com o presente estudo serão publicados em revistas científicas, respeitando o caráter confidencial e anonimato. O senhor(a) receberá os resultados de seus exames sorológicos, caso seja necessário, e será orientado a procurar um médico. Além disso, receberá orientações sobre os cuidados para evitar a doença e como deverá lidar com os animais para controlar a transmissão do parasita. Quaisquer dúvidas sobre assuntos relacionados à pesquisa serão esclarecidas pelas pesquisadoras responsáveis.

O(A) senhor(a) está recebendo uma via de igual teor deste termo de consentimento, e pelo presente, consentirá voluntariamente em participar deste estudo.

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa Humana do Instituto Oswaldo Cruz- Fiocruz – Endereço: Avenida Brasil, Avenida Brasil, 4.036 - sala 705 (Expansão), Manguinhos - Rio de Janeiro/RJ - CEP: 21.040-360 Tels.: (21) 3882-9011 e-mail: etica@fiocruz.br, cepfiocruz@ioc.fiocruz.br.

Rio de Janeiro, ____ / ____ /201__

_____ **Aminatura do Participante**

_____ **Testemunha**

_____ **Pesquisadora**

APÊNDICE 2 – Questionário aplicado aos médicos veterinários

Questionário Epidemiológico (I)

Médicos Veterinários ocupacionalmente expostos

Dados Gerais

Nome e Sobrenome: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Área de trabalho: _____

Há trabalhado em outras áreas.

____sim ____não Qual _____

Tempo (em números) que trabalha no zoológico.

____anos ____meses ____semanas ____dias

Questionário

Ajustado segundo "Metodología para a análise de alguns indicadores de risco associados ao manejo territorial das zoonoses" segundo Suárez et al., (2006); (2008) e aplicado a pessoas ocupacionalmente expostas.

Leia detidamente o questionário seguinte, depois, responda as perguntas o mais rapidamente possível e não responda duas vezes uma mesma pergunta.

1. Conhece você o que es risco?
____sim ____não
2. Está você submetido a riscos?
____sim ____não
3. Você detecta e notifica as zoonoses al menos num 50 % dos casos?
____sim ____não
4. Você conhece o que fazer ante uma zoonoses?
____sim ____não
5. Você conhece a sua função numa situação de emergência no caso de zoonoses?
____sim ____não
6. Conhece a situação da toxoplasmoses em seus animais e y trabalhadores do centro?
____sim ____não
7. Você pode orientar um diagnóstico presuntivo das doenças comuns ao homem e os animais pelo menos num 50 % dos casos que se apresentam?
____sempre ____as vezes ____nunca
8. Existem fatores de risco para a população na sua área de trabalho para padecer alguma zoonoses?
____sim ____não
9. Conhece as vias o mecanismos para a interação dos Serviços Veterinários Assistenciais e os Serviços Assistenciais de Saúde Pública?
____sim ____não
10. Segue as normas de proteção e higiene sempre que trabalha com animais?
____sempre ____as vezes ____nunca

Dados complementários ao questionário

Resultados das provas:

RIFI: ____Positivo ____Negativo ____Titulo

EIISA: ____Positivo ____Negativo

APÊNDICE 3 – Questionário aplicado aos outros profissionais

Questionário Epidemiológico (II)

Outros profissionais ocupacionalmente expostos

Dados Gerais

Nome e Sobrenome: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Área de trabalho: _____

Há trabalhado em outras áreas.

____ sim ____ não Qual _____

Tempo (em números) que trabalha no zoológico.

____ anos ____ meses ____ semanas ____ dias

Questionário

Ajustado segundo "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associados ao manejo territorial das zoonoses" segundo Suárez et al., (2006); (2008) e aplicado a pessoas ocupacionalmente expostas.

Leia detidamente o questionário seguinte, depois, responda as perguntas o mais rapidamente possível e não responda duas vezes uma mesma pergunta.

1. Conhece você o que es risco?
____ sim ____ não
2. Está você submetido a riscos?
____ sim ____ não
3. Considera se exposto ou não a doenças zoonóticas?
____ sim ____ não
4. Conhece a situação do comportamento atual das zoonoses nos animais silvestres?
____ sim ____ não
5. Você pode transmitir doenças aos animais?
____ sim ____ não
6. Conhece se a Toxoplasmose é uma zoonoses?
____ sim ____ não
7. Utiliza meios de proteção para o trabalho com os animais ou seus produtos?
____ sempre ____ as vezes ____ nunca
8. Ao terminar o trabalho com os animais ou seus produtos se lava as mãos?
____ sempre ____ as vezes ____ nunca
9. Antes de ingerir alimentos se lava as mãos?
____ sempre ____ as vezes ____ nunca
10. Guarda alimentos para seu consumo nas instalações destinadas aos animais?
____ sim ____ não

Dados complementários ao questionário

Resultados das provas:

RIFI: ____ Positivo ____ Negativo ____ Titulo

Elisa: ____ Positivo ____ Negativo

APÊNDICE 4 – Questionário aplicado aos técnicos e tratadores

Questionário Epidemiológico (III) Técnicos e tratadores ocupacionalmente expostos

Dados Gerais

Nome e Sobrenome: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Área de trabalho: _____

Há trabalhado em outras áreas.

____ sim ____ não Qual _____

Tempo (em números) que trabalha no zoológico.

____ anos ____ meses ____ semanas ____ dias

Questionário

Ajustado segundo "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associados ao manejo territorial das zoonoses" segundo Suárez et al., (2006); (2008) e aplicado a pessoas ocupacionalmente expostas.

Leia detidamente o questionário seguinte, depois, responda as perguntas o mais rapidamente possível e não responda duas vezes uma mesma pergunta.

1. Conhece você o que es risco?

____ sim ____ não

2. Está você submetido a riscos?

____ sim ____ não

3. Você conhece o que é uma zoonoses?

____ sim ____ não

4. Conhece se há doenças que podem transmitir se dos animais ao homem?

____ sim ____ não

5. Você pode transmitir doenças aos animais?

____ sim ____ não

6. Conhece se a Toxoplasmoses é uma zoonoses?

____ sim ____ não

7. Utiliza meios de proteção para o trabalho com os animais ou seus produtos?

____ sempre ____ as vezes ____ nunca

8. Quando termina o trabalho com os animais ou seus produtos se lava as mãos?

____ sempre ____ as vezes ____ nunca

9. Antes de ingerir alimentos se lava as mãos?

____ sempre ____ as vezes ____ nunca

10. Guarda alimentos de seu consumo nas instalações destinadas aos animais?

____ sim ____ não

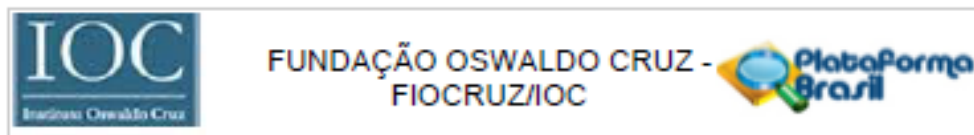
Dados complementários ao questionário

Resultados das provas:

RIFI: ____ Positivo ____ Negativo ____ Titulo

Elisa: ____ Positivo ____ Negativo

ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo comparativo da prevalência da Infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional, entre os zoológicos: Parque Zoológico Nacional (Cuba) e do RIOZOO (Brasil).

Pesquisador: Maria Regina Reis Amendoira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 49773215.7.0000.5248

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.308.111

Apresentação do Projeto:

Toxoplasma gondii infecta várias espécies de animais, inclusive o homem. Todos os hospedeiros podem apresentar a infecção assintomática, no caso do homem chega a cerca de 90% dos casos. A infecção se dá pela ingestão de cistos em carne crua/mal cozida e de oocistos em alimentos/água contaminados. Tendo com base o exposto, será realizado um estudo comparativo da prevalência da infecção por *T.gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional do Parque Zoológico Nacional (PZN) de Cuba e do RIOZOO (Brasil), com o objetivo de determinar a prevalência de anticorpo de *T. gondii* em ungulados, primatas, carnívoros e seres humanos com risco ocupacional no Parque Zoológico Nacional (PZN) de Cuba e RIOZOO do Rio de Janeiro, BR. Para tanto os dados serão obtidos por meio da coleta de sangue das famílias de ungulados, primatas, carnívoros, indivíduos humanos com risco ocupacional e fezes de felinos.

Será realizado um estudo analítico, observacional, transversal, não controlado, comparando os resultados obtidos em zoológicos de dois países (Cuba e Brasil). O projeto será submetido ao comitê de ética no Uso de Animais (CEUA) do IOC/ Fiocruz, e só será desenvolvido após a

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-0011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Continuação do Parecer: 1.306.111

aprovação do CEUA. O RioZOO já forneceu o Termo de Anuência para realização do projeto. No caso dos animais do Parque Zoológico Nacional (Cuba) já temos a Aprovação do Código de Ética para trabalho com animais. Com relação à pesquisa com seres humanos será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP – Fiocruz/IOC). A pesquisa se iniciará somente após da aprovação do CEUA e do CEP. A coleta de sangue humano (exames sorológicos específicos para detecção de anticorpos anti-T.gondii) será realizada por uma técnica de enfermagem. Já a coleta de sangue dos animais (para realização de exames sorológicos específicos para detecção de anticorpos anti-T.gondii) e fezes de felinos (para detecção de oocistos de T.gondii) será realizada por um médico veterinário do zoológico. Somente participarão do estudo aqueles que aceitarem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas.

Metodologia Proposta:

A pesquisa conta com três partes fundamentais:

1. Coleta de amostras dos animais.

• Amostras de sangue para extração de soro. As amostras de sangue serão coletadas na veia jugular de ungulados, veia femoral de carnívoros e primatas, com anti-sepsia antes punção da área com eosina ou álcool a 70%. Serão utilizadas seringas de 10mL e 20 mL, descartáveis. Os tubos de ensaio serão estéreis devidamente rotulados. O sangue será distribuído em tubos sem anti-coagulante para obtenção de soro. O soro e o sangue com EDTA serão conservados a -20°C. Para a detecção de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em ungulados, primatas e carnívoros será utilizada a técnica de ELISA/inibição validado pelo Centro para a Produção de Animais de Laboratório em Cuba.

2. Coleta de amostras dos profissionais com risco ocupacional após ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

• Amostras de sangue para extração de soro. Amostras de sangue serão coletadas na veia radial, com anti-sepsia antes punção da área com eosina ou álcool a 70 %. Serão utilizadas seringas de 3mL e 5 mL, descartáveis. Os tubos de ensaio serão estéreis devidamente rotulados. O sangue será distribuído em tubos sem anti-coagulante para obtenção de soro. Após a refração do coágulo, a amostra será centrifugada a 1000g durante 10 minutos. Os soros serão identificados e armazenados em tubos de polipropileno, mantidos a temperatura de -20°C, até a realização dos testes sorológicos. As amostras de sangue total, serão congeladas até o momento de seu

Continuação do Parecer: 1.206.111

processamento em laboratório. Para a detecção de anticorpos anti-Toxoplasma gondii serão utilizadas as técnicas de ELISA e RIFI.

3. Para o estudo dos indicadores de risco associados a zoonoses em ungulados, primatas, carnívoros e humanos no PZN e no RIOZOO, se seguirá as etapas: Considerando, também, esses critérios, serão definidos alguns indicadores de risco.

3.1. Se definirá o fator de risco associado com a presença de doenças infecciosas ou parasitárias de caráter zoonótico em ungulados, primata, carnívoros e pessoas com riscos ocupacionais em instalações com animais silvestres em cativeiro.

3.2. Para identificar os fatores de risco, se aplicará a "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associados ao manejo territorial das zoonoses" segundo Suárez et al., (2006; 2008) ao qual foram realizadas algumas adequações para aproximá-la às zoonoses parasitárias.

3.3. A pesquisa utilizada deverá respeitar os princípios do desenho de um questionário ou um inquérito epidemiológico segundo Pfeifer (2002) e atender aos requisitos, tanto quanto possível, ser fechadas ou de múltipla escolha, tendo veracidade, subjectividade reduzida, confiabilidade e facilidade de aplicação. A aplicação do inquérito será precedida de uma seleção das pessoas a serem investigadas a partir de: Grupos de Trabalhadores de nível superior com riscos laborais, Membros dos Serviços Veterinários Assistentes de nível superior e Membros dos Serviços Veterinários Assistenciais de nível médio superior.

Critério de Inclusão:

No estudo serão incluídos animais das famílias de ungulados, primatas e carnívoros de Parque Zoológico Nacional (PZN) de Cuba e RIOZOO do Rio de Janeiro. Também os indivíduos selecionados devem ser aparentemente saudáveis. Para o estudo com os trabalhadores do Parque Zoológico Nacional (PZN) de Cuba e do RIOZOO do RJ serão incluídas as pessoas com risco ocupacional que participarão do estudo deverão estar em contato direto com os animais ou com os produtos dos mesmos. Os participantes deverão ser maiores de 18 anos, de ambos os sexos e de todas as raças.

Critério de Exclusão:

Na pesquisa terá como critério de exclusão as amostras biológicas dos animais tais como: aves, répteis e outros residentes da fauna, além dos animais nascidos fora do Zoológico Nacional (PZN) e RIOZOO. Não serão estudados animais senis, fêmeas grávidas e seus filhotes. Os trabalhadores que não tiverem interesse em participar e que não assinarem o Termo de Consentimento Livre e



Continuação do Parecer: 1.200.111

Esclarecido e os indivíduos que trabalharem em outras áreas que não tenham contato com os animais ou seus derivados.

Número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa: 49

Outros Técnicos (n=3)	Aplicação de questionário e coleta de sangue
Veterinários (n=4)	Aplicação de questionário e coleta de sangue
Cuidadores (n=33)	Aplicação de questionário e coleta de sangue
Biólogos (n=3)	Aplicação de questionário e coleta de sangue
Pessoal que trabalha com alimento (n=6)	Aplicação de questionário e coleta de sangue.

Após a aprovação do CEUA e do CEP, serão coletadas as amostras biológicas dos animais e dos profissionais em risco ocupacional do RIOZOO. A coleta de sangue será realizada por um técnico de enfermagem. Já a coleta de sangue e fezes em animais será realizada por um médico veterinário do zoológico. Somente participarão do estudo aqueles que aceitarem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para obtenção

das amostras de sangue para os animais de 3-5 ml e em humanos 5 ml em tubos específicos para sorologia. O método de escolha para a detecção de IgG e IgM em animais será feito pelo método ELISA de Inibição (ELISA/I). As amostras humanas serão analisadas pelos métodos Toxoplasma Latex, ELISA e RIFI. As amostras dos animais serão transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Centro para a Produção de Animais de Laboratório em Cuba. Para o transporte as amostras serão acondicionadas em embalagens Categoria B (UN 3373) apropriada ao transporte aéreo para material biológico, as amostras será condicionadas pelas normas internacionais de transporte em dióxido de carbono sólido (gelo seco) com saída do gás de dióxido de carbono para evitar uma acumulação de pressão que possa romper as embalagens. A embalagem primária e a embalagem secundária devem manter a sua integridade tanto para a temperatura do refrigerante utilizado como para a temperatura e a pressão resultante caso se perca a refrigeração, e colocadas em uma sobreembalagem, as marcações de embalagem requeridas devem ser claramente visíveis ou reproduzidas no lado de fora da sobreembalagem a qual deve ser marcada com a palavra "Sobreembalagem" ou "Overpack". A análise

das amostras dos trabalhadores em risco será processada no Laboratório de Toxoplasmoses e

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfioacruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.306.111

outras Protozooses no Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. Será feita uma comparação dos resultados obtidos no RIOZOO com os resultados obtidos no Parque Zoológico Nacional de Cuba com do RIOZOO, Rio de Janeiro, Brasil. Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas.

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

A presença de títulos de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em profissionais com risco ocupacional do Parque Zoológico Nacional de Cuba e RIOZOO pode estar associada a presença de ungulados, primatas e carnívoros com a infecção por T.gondii, sendo inclusive a transmissão ter ocorrido por uma fonte comum.

Objetivo Primário:

Determinar a prevalência de anticorpo de Toxoplasma gondii em ungulados, primatas, carnívoros e em profissionais com atividades que possam levar ao risco ocupacional no Parque Zoológico Nacional (PZN) de Cuba e RIOZOO do Rio de Janeiro, BR.

Objetivo Secundário:

1. Fazer uma análise comparativo da prevalência da toxoplasmose em animais e pessoas com risco ocupacional no Parque Zoológico Nacional (PZN) de Cuba e RIOZOO do Rio de Janeiro, BR.
2. Definir, identificar e avaliar os fatores de risco associados a presença de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em ungulados, primatas, carnívoros e pessoas com riscos ocupacionais nos Parque Zoológico Nacional e RIOZOO.
3. Demonstrar a relação dos níveis de anticorpos para anti-Toxoplasma gondii entre os ungulados, primatas, carnívoros e seres humanos no Parque Zoológico Nacional e no RIOZOO.
4. Neste projeto objetiva-se a utilização de métodos de pesquisa parasitológica (oocistos em fezes de felinos), sorológica e molecular aplicados na vigilância epidemiológica.
5. Detectar a percepção de risco e a cultura de prevenção, utilizando a competência profissional pelos trabalhadores do Parque Zoológico Nacional e do RIOZOO.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-0011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.306.111

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A pesquisa apresenta risco físico tanto para os animais e quanto para os humanos na coleta de sangue, pois poderá ocorrer hematoma e dor local. Para os indivíduos que fazem a captura dos animais, também apresenta há risco biológico devido ao manuseio, coleta de sangue e das fezes.

Benefícios:

Os resultados da pesquisa trarão benefícios diretos tanto para os animais, quanto para os profissionais das Instituições participantes do estudo. Pois, além de esclarecer sobre os mecanismos de transmissão da Infecção e medidas de controle, serão entregues os resultados sorológicos. Em caso de infecção aguda o participante será orientado a procurar um médico. Além disso, com os resultados obtidos será possível auxiliar os profissionais a traçar medidas de profilaxia e controle adequadas ao local.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está suficientemente claro em seus propósitos e devidamente fundamentado, tem relevância científica, e não necessita de submissão à CONEP antes de ser iniciado. O projeto já foi aprovado pelo CEP de Cuba e somente será realizado na Fiocruz após a aprovação do CEUA e do CEP Fiocruz/IOC. As amostras dos ungulados, primatas e carnívoros com a Infecção por *T.gondii* serão realizadas no Laboratório de Toxoplasmose da Fiocruz/IOC e depois os resultados serão comparados com os resultados do mesmo estudo realizado em Cuba. Está anexado termo de colaboração da equipe de Cuba com o respectivo projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de Rosto [FolhadeRosto.pdf](#)

TCLE [.pdf](#)

Termo anuência [_RIOZOO.pdf](#)

Questionários [.pdf](#)

Declaração de Pesquisadores - termo [_sigilo_marcia.pdf](#)

Declaração de Pesquisadores - termo [_sigilo_ginette.pdf](#)

Declaração de Pesquisadores - termo [_desigilo_MR.pdf](#)

Declaração de Pesquisadores - TermoCompromisso [_Sigilo_Yolanda.pdf](#)

Projeto Detalhado / Brochura Investigador [_ProjetoDetalhado_Ginette.pdf](#)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-0011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.306.111

Recomendações:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC), em sua 209ª Reunião Ordinária, realizada em 13.10.2015, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Considerações Finais a critério do CEP:

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido -TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_602169.pdf	02/10/2015 14:32:20		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	02/10/2015 14:31:07	Maria Regina Reis Amendoelra	Aceito
Outros	TermoAnuenciaRIOZOO.pdf	02/10/2015 10:28:35	Maria Regina Reis Amendoelra	Aceito
Outros	questionarios.pdf	02/10/2015 00:12:20	Maria Regina Reis Amendoelra	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termosigilomarcla.pdf	02/10/2015 00:11:29	Maria Regina Reis Amendoelra	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termosigiloginette.pdf	02/10/2015 00:11:15	Maria Regina Reis Amendoelra	Aceito

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.308.111

Declaração de Pesquisadores	termodesigiloMR.pdf	02/10/2015 00:11:01	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoSigiloYolanda.pdf	02/10/2015 00:10:43	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodetalhadoGinette.pdf	02/10/2015 00:09:52	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	02/10/2015 00:09:24	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 04 de Novembro de 2015

José Henrique da Silva Pilotto

Assinado por:

José Henrique da Silva Pilotto
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

ANEXO 2 – Carta de permissão dos diretores do Parque Zoológico Nacional de Cuba

Ministerio de la Agricultura
Parque Zoológico Nacional
Cementería de Varona, km 3 1/2, Capdevila, Boyeros, La Habana, Cuba | CP. 10800 AP 8010
Tel: (+53) 7847 2884 / (+53) 7844 7813
E-mail: direccion@cubezoo.cu / Sitio web: <http://www.cubezoo.cu>



La Habana, 18 de diciembre de 2016

A quien pueda interesar.

Como director adjunto del Parque Zoológico Nacional de Cuba autorizo la investigación que se realiza con los animales de nuestra instalación. Nuestro país no posee CEUA, por tanto, por medio de la presente autorizamos dicha investigación. La compañera GINETTE VILLAR ECHARTÉ que desarrolla el proyecto de investigación del estudio comparativo sobre la prevalencia de Toxoplasmosis entre el Zoológico Nacional de Cuba y el Zoológico de Río de Janeiro. La misma abarca importantes especies de nuestro zoológico, muchas de ellas recibidas en la donación de Namibia, también son estudiados los trabajadores con riesgo ocupacional por ser esta una enfermedad zoonótica. Esta investigación forma parte de estudios previos de maestría realizados por la compañera GINETTE VILLAR ECHARTÉ.

Sin otro asunto que tratar,



Lic. Eduardo Padrón Ramos

Director Adjunto


Parque Zoológico Nacional de Cuba

ANEXO 3 – Carta de permissão dos diretores do Zoológico do Rio de Janeiro



A DTE SOLICITANDO ANÁLISE

De: Diretoria Técnica para Gerências e sub-gerências Técnicas
Encaminhamento de Projeto de Pesquisa
Em: 08/05/2015


Marcus Delgado Borges
Diretor Técnico

TÍTULO DO TRABALHO: ESTUDO COMPARATIVO DE INFECÇÃO POR TOXOPLASMA GONDII EM ANIMAIS SILVESTRES EM CATIVEIRO E DA PREVALÊNCIA FATORES DE RISCO PARA A SAÚDE HUMANA ASSOCIADOS COM O RISCO OUPACIONAL

AUTOR (A): Ginette Vilar Echarte
ORIENTADOR (A): Dr^a. Maria Regina Reis Amendoeira

INSTITUIÇÃO: Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ

Declaramos que estamos cientes e de acordo com os propósitos e metodologia do trabalho supramencionado.

- GBIO 
ANDERSON M. DE A. CASTRO
Chefe de Biologia
Matr. 60/1500.509-5
CRMV - 31669/02
Fundação RIOZOO
- SUAVE 
MARCOS L. DE A. JOBOUR
RODRIGO DE C. DA COSTA
Subgerente Técnico
Matr. 60/1500.522-5
CRMV 31187/02
Fundação RIOZOO
- SUART 
MARCOS L. DE A. JOBOUR
Marcos Linares Jobour
Lilégio - 085 3.174.92
Matr. 40/1500.035-1
Fundação RIOZOO
- SUALI
- GVET 
VERA LUCIA DE OLIVEIRA
Gerente de Veterinária
Matr. 31/1500.027-8
CRMV RJ 2923
Fundação RIOZOO
- SUTAU 
DENIS REN
Subgerente de Técnica Analítica
Matr. 60/1500.543-5
CRMV RJ 2923
Fundação RIOZOO
- SUCLI
- PNMCM 
BRUNO JORGE DUARTE DA SILVA
Subgerente do PNMCM
Matr. 60/1500.583-2
CRMV-RJ N. 414
Fundação RIOZOO

ANEXO 4 – Aprovação do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Ministério do Meio Ambiente (IBAMA)



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54787-1	Data da Emissão: 27/08/2018 11:50	Data para Revalidação*: 27/10/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Alynne da Silva Barbosa	CPF: 095.101.537-02
Título do Projeto: Estudo comparativo da prevalência de infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em animais silvestres em cativeiro, vida livre e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional, entre os zoológicos: Parque Zoológico Nacional (Cuba) e do RIOZOO (Brasil).	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta e análise das amostras e identificação dos resultados	07/2018	07/2020

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoas naturais ou jurídicas estrangeiras, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinam ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exclui o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para as fins previstas na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para Importação ou exportação de flora e fauna - CITES) e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condições <i>in situ</i> .
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falta de descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componentes do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	O projeto possui um (1) membro de nacionalidade estrangeira em sua equipe, GINETTE VILLER ECHARTÉ que possui o vínculo de Programa de bolsas ou auxílio à pesquisa patrocinado pela CAPES, estando portanto, dispensada de autorização do MCTI.
---	---

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	ANDERSON MENDES AUGUSTO	Biólogo de Fundação Jardim Zoológico de Rio de Janeiro	020.585.127-40	24689/02 CRBIO-02-RJ	Brasileira
2	Ana Leticia Carvalho Santos	Análise das amostras e identificação dos resultados	011.508.742-79	1022237 SSP-RO	Brasileira
3	Maria Regina Reis Amendoim	Chefe do laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses	309.652.417-04	02722 355-1 IFF-RJ	Brasileira
4	Ginette Viller Echarte	Análise das amostras e identificação dos resultados	063.212.997-23	G133730 CGP/DIREX-RJ	Estrangeira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 49642943



Página 1/4



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 64787-1	Data da Emissão: 27/09/2018 11:50	Data para Revalidação*: 27/10/2017
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Alynne da Silva Barbosa	CPF: 095.101.537-02
Título do Projeto: Estudo comparativo da prevalência de infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em animais silvestres em cativeiro, vida livre e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional, entre os zoológicos: Parque Zoológico Nacional (Cuba) e do RIOZOO (Brasil).	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	RIO DE JANEIRO	RJ	Fundação Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro	Fora de UC Federal

Atividades X Taxons

#	Atividade	Taxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Subela bubala, Papio cynocephalus, Yngelaphus angasi, Actus azarai, Procyon cancrivorus, Puma concolor, Alouatta guariba, Ateles marginatus, Nasua nasua, Ateles panlicus, Leopardus pardalis, Saginus fuscicollis, Callithrix geoffroyi, Canis lupus, Mandrillus sphinx, Alouatta belzebul, Ateles chamek, Ovis aries, Tayassu pecari, Sapajus robustus, Saginus labiatus, Chiropotes utahicki, Pecari tajacu, Gallithea vittata, Lama glama, Panthera onca, Cebus albifrons, Papio anubis, Macaca fasciata, Papio papio, Actus nigricans, Lontra longicaudis, Callimico goeldii, Ammotragus levis, Mazama gouazoubira, Capra hircus, Papio hamadryas, Panthera leo, Galinix ueta, Macaca nemestrina, Chrysocyon brachyurus, Alouatta seniculus, Ceropithecus pygerythrus, Sapajus apella, Ehi barbata, Sapajus xanthostomus, Leopardus tigrinus, Puma yagouaroundi, Lagothrix lagotricha, Macaca mulatta, Mungos mungo, Chiropotes abinus, Leontopithecus chrysomela, Cenus unicolor, Sapajus flavius, Macaca fascicularis, Callicebus discolor, Pithecia imitata, Callithrix jacchus, Cebus kaopori, Saginus myiactis, Potos flavus, Callithrix penicillata, Callicebus brunneus, Bos baurus, Cerdocyon thous, Panthera tigris, Alouatta caraya, Lama pacos, Lycalopex vetulus
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Calina moachaba
3	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Calina moachaba

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Sangue
2	Amostras biológicas (Carnívoros)	Sangue
3	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue
4	Amostras biológicas (Primates)	Sangue
5	Método de captura/coleta (Aves)	Outros métodos de captura/coleta (Captura manual), Pupá
6	Método de captura/coleta (Carnívoros)	Outros métodos de captura/coleta (Dardo anestésico)
7	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Captura manual, Outros métodos de captura/coleta (Dardo anestésico)
8	Método de captura/coleta (Primates)	Captura manual, Pupá, Outros métodos de captura/coleta (Dardo anestésico)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 49642943



Página 2/4



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54787-1	Data da Emissão: 27/08/2018 11:50	Data para Revalidação*: 27/10/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Alynne da Silva Barbosa	CPF: 005.101.537-02
Título do Projeto: Estudo comparativo da prevalência de infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em animais silvestres em cativeiro, vida livre e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional, entre os zoológicos: Parque Zoológico Nacional (Cuba) e do RIOZOO (Brasil).	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 49642943



Página 4/4

ANEXO 5 – Aprovação Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/ IOC



Instituto Oswaldo Cruz

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/ IOC

LICENÇA

L-045/2016

Certificamos que o protocolo (CEUA/IOC-031/2016), intitulado "Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no RioZoo, RJ, Brasil", sob a responsabilidade de **MARIA REGINA REIS AMENDOEIRA** atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exige a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença tem validade até 31/07/2020 e inclui o uso total de:

Animal	espécie e linhagem	quant (total)	♂	♀	idade	peso	origem (*)
<input checked="" type="checkbox"/> camundongo	Swiss Webster	500	xx	500	30 dias	20 gramas	Biotério CECAL
<input type="checkbox"/> Rato							
<input type="checkbox"/> Coelho							
<input type="checkbox"/> Hamster							
<input checked="" type="checkbox"/> Aves	<i>Cairina moschata</i>	100	50	50	Adultos e jovens		RioZoo
<input checked="" type="checkbox"/> Primata não humano	<i>Aotus azarai</i>	3	1	2	Adultos		RioZoo
	<i>Aotus nigriceps</i>	6	3	3			
	<i>Alouatta belzebul</i>	1	1	0			
	<i>Alouatta caraya</i>	1	1	0			
	<i>Alouatta clamitans</i>	1	1	0			
	<i>Alouatta seniculus</i>	2	1	1			
	<i>Ateles chamek</i>	6	3	3			
	<i>Ateles marginatus</i>	5	1	4			
	<i>Ateles paniscus</i>	4	1	3			



Instituto Oswaldo Cruz

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/IOC

<i>Lagothrix lagotricha</i>	2	1	1			
<i>Callimico goeldii</i>	1	1	0			
<i>Callithrix jacchus</i>	2	1	1			
<i>Callithrix sp.</i>	2	1	1			
<i>Cebus apella</i>	13	10	3			
<i>Cebus albifrons</i>	5	2	1			
<i>Cebus kaapori</i>	1	0	1			
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	1	1	0			
<i>Saguinus fuscicollis</i>	2	0	2			
<i>Saguinus mystax</i>	1	0	1			
<i>Saguinus labiatus</i>	1	0	1			
<i>Saimiri ustus</i>	3	2	1			
<i>Sapajus flavius</i>	8	3	5			
<i>Sapajus robustus</i>	5	2	3			
<i>Sapajus xanthostemos</i>	20	9	11			
<i>Cercopithecus pigerythrus</i>	3	2	1			
<i>Macaca fascicularis</i>	3	1	2			
<i>Macaca fuscata</i>	2	2	0			
<i>Macaca mulatta</i>	2	1	1			
<i>Macaca nemestrina</i>	2	1	1			
<i>Papio Anubis</i>	1	1	0			
<i>Papio cynocephalos</i>	2	0	2			
<i>Papio hamadryas</i>	1	1	0			
<i>Papio papio</i>	1	1	0			
<i>Mandrillus sphynx</i>	2	1	1			
<i>Pan troglodytes</i>	3	2	1			
<i>Pongo abelii</i>	2	0	2			



Instituto Oswaldo Cruz

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/IOC

	<i>Callicebus brunneus</i>	1	0	1			
	<i>Chiropotes albinasus</i>	1	0	1			
	<i>Chiropotes utahickae</i>	2	1	1			
	<i>Pithecia irrorata</i>	5	2	3			
(X) Carnívoros	<i>Canis lupus</i>	1	0	1	Adultos		RioZoo
	<i>Cerdocyon thous</i>	3	1	2			
	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	3	1	2			
	<i>Leopardus tigrinus</i>	3	1	2			
	<i>Leopardus pardalis</i>	2	1	1			
	<i>Panthera altaica</i>	1	1	0			
	<i>Panthera onca</i>	1	0	1			
	<i>Panthera tigris</i>	3	2	1			
	<i>Puma concolor</i>	2	2	0			
	<i>Puma yagouaroundi</i>	1	1	0			
	<i>Panthera leo</i>	1	1	0			
	<i>Mungos mungo</i>	3	2	1			
	<i>Eira barbara</i>	2	0	2			
	<i>Galictis vittata</i>	2	1	1			
	<i>Lontra longicaudis</i>	1	0	1			
	<i>Arctocephalus tropicalis</i>	1	1	0			
	<i>Nasua nasua</i>	4	3	1			
	<i>Potos flavus</i>	4	0	4			
	<i>Procyon cancrivorus</i>	4	3	1			
	<i>Tremarctus ornatus</i>	2	1	1			
	<i>Ursus arctos</i>	1	1	0			
(X) Ungulados	<i>Bubalus bubalis</i>	3	2	1	Adultos		RioZoo
	<i>Bos taurus</i>	4	1	3			
	<i>Capra hircus</i>	1	0	1			
	<i>Ovis aries</i>	1	0	1			
	<i>Lama glama</i>	3	1	2			
	<i>Lama pacos</i>	5	2	3			



Instituto Oswaldo Cruz

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/IOC

	<i>Cervus unicolor</i>	45	15	30			
	<i>Hippopotamus amphibius</i>	2	1	1			
	<i>Tayassu pecari</i>	1	1	0			
	<i>Pecari tajacu</i>	8	5	3			
	<i>Equus asinus</i>	1	1	0			
	<i>Equus caballus</i>	5	2	3			
	<i>Tapirus terrestres</i>	6	4	2			
	<i>Elephas maximus</i>	2	0	2			

Esta licença não substitui outras licenças necessárias, como Certificado de Qualidade em Biossegurança para animais geneticamente modificados, certificado do IBAMA para captura de animais silvestres ou outros.

Rio de Janeiro, 13 de outubro de 2016.

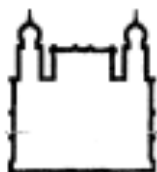
Flávio Alves Lara

Coordenador da CEUA/Instituto Oswaldo Cruz

Fundação Oswaldo Cruz

FIOCRUZ-Fundação Oswaldo Cruz/IOC-Instituto Oswaldo Cruz
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ - Brasil
CEP: 21040-360 Tel: (21) 2562-1056

**ANEXO 6 – Licença Aditiva da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA/
IOC**



Instituto Oswaldo Cruz

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/ IOC

LICENÇA ADITIVA

LA-011/2017

A Comissão CEUA/IOC, em atenção à solicitação da pesquisadora **MARIA REGINA REIS AMENDOEIRA**, responsável pela licença (L-045/2016), do protocolo (CEUA/IOC-031/2016), intitulado "Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro, vida livre e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional, entre os zoológicos: Parque Zoológico Nacional (Cuba) e do RIOZOO", que atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), autoriza o presente aditivo. A referida licença aditiva não exige a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença aditiva tem validade até 31/07/2020 e inclui:

Uso de animais:

Animal	espécie ou linhagem	quant (total)	♂	♀	idade	peso	origem (*)
Outros	Gatos domésticos (felis catus)	20	10	10	Adultos e jovens	-	Animais soltos no RIOZOO

Observação: Esta licença aditiva não substitui outras licenças necessárias, como Certificado de Qualidade em Biossegurança para animais geneticamente modificados, certificado do IBAMA para captura de animais silvestres ou outros.

Rio de Janeiro, 25 de abril de 2017.

**Coordenador CEUA/Instituto Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz**

FIOCRUZ-Fundação Oswaldo Cruz/IOC-Instituto Oswaldo Cruz
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ - Brasil
CEP: 21040-360 Tel: (21) 2562-1058

ANEXO 7. – Artigo original- Assessment professional competence and risk factors perception of *Toxoplasma gondii* at the Cuba National Zoo Park and Zoo Garden of Rio de Janeiro, Brazil, publicado na Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v.6, n. 1, p. 016-029, 2019

16

Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v.6, n. 1, p. 016-029, 2019

**ASSESSMENT PROFESSIONAL COMPETENCE AND RISK FACTORS
PERCEPTION OF *TOXOPLASMA GONDII* AT THE CUBA NATIONAL ZOO PARK
AND ZOO GARDEN OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL**

*(Avaliação da percepção de fatores de risco da transmissão de *Toxoplasma gondii* dos trabalhadores, em suas atividades ocupacionais, no Zoológico Nacional de Cuba e da Fundação Jardim Zoológico de Rio de Janeiro, Brasil)*

ECHARTE, Ginette Villar^{1*}; FERNÁNDEZ, Yolanda Emilia Suárez²; AUGUSTO, Anderson Mendes³; SANTOS, Ana Leticia Carvalho⁴; DANTAS, Marcia Macedo Lima⁴; IRAOLA, Raymundo Cor⁴; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis⁴

1. Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

2. Universidad Agraria de La Habana

3. Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro

4. Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

*Autor para correspondência: ginettevillar@gmail.com

Artigo enviado em: 11/04/2018, aceito para publicação em 23/07/2018

DOI:

ABSTRACT

The practice of veterinary medicine exposes the professional to risks, increasing to those working in zoos. The objective was to evaluate the variables: risk perception and professional competence. As well risk factors associated with the presence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in workers exposed to the National Zoological Park of Cuba (PZN) and RIOZOO. Were surveyed 133 workers (79 of PZN and 54 of RIOZOO) among veterinarians, biologists, technicians and service staff. To evaluate variables, was used the questionnaire "Methodologies for the analysis of some indicators of risk associated to the territorial handling of zoonosis" developed and validated in Cuba. Was made using software Epidat 3.1 in the statistical analysis test of χ^2 . For detection of anti-*T.gondii* antibodies, were used ELISA and IFAT techniques. The samples were analyzed at the Toxoplasmosis Laboratory of the Tropical Medicine Institute in Cuba "Pedro Kouri" and at the Laboratory of Toxoplasmosis and other Protozooses of Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, RJ, Brazil. The analysis of replies obtained through questionnaires there were no findings of statistical differences ($p < 0.05$). The evaluated variables punctuated as nominal category "MEDIUM", predominantly. The serologic results, the technicians group have significant statistical differences $p < 0.05$ between the two zoological gardens. The levels of risk perception in the investigated workers were not statistically different between the two zoological gardens in relations to professional competence.

Key words: exposed workers, Toxoplasmosis, risk perception, professional competence.

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v.6, n. 1, p. 016-029, 2019

RESUMO

A prática da medicina veterinária expõe o profissional a riscos, sendo que a probabilidade aumenta para os que trabalham em zoológicos. O presente estudo, aborda a infecção toxoplásmica em indivíduos com atividades laborais com animais silvestres em cativeiro. O objetivo da pesquisa foi avaliar as variáveis: percepção de risco e competência profissional, assim como os fatores de risco associado a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em trabalhadores com risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no RIOZOO. Para tanto, foram pesquisados 133 trabalhadores expostos ocupacionalmente ($n=79$ do Zoológico Nacional de Cuba e $n=54$ do RIOZOO) entre médicos veterinários, biólogos, técnicos e pessoal de serviços com atividades relacionadas aos animais. Para avaliar as variáveis foi utilizado o questionário "Metodologia para a análise de alguns indicadores de risco associado ao manejo territorial das zoonoses", desenvolvido e validado em Cuba pela Dra. Sotres e colaboradores (2006), modificado (2008). Na análise estatística dos dados foi realizada a prova de χ^2 utilizando o software Epidat 3.1 (2006). Para a detecção dos anticorpos anti-*T. gondii* foram utilizadas as técnicas de ELISA e RIFI. As amostras foram analisadas no Laboratório de Toxoplasmose do Instituto Medicina Tropical "Pedro Kouri" em Cuba e no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, RJ, Brasil. Na análise das respostas obtidas por meio do questionário não se encontrou diferenças estatísticas ($p \geq 0.05$) entre os dois zoológicos. As variáveis, percepção de risco e competência profissional, foram pontuadas, predominantemente, como categoria nominal "MÉDIA". Nos resultados sorológicos dos trabalhadores, somente o grupo dos técnicos (Zoológico Nacional de Cuba, 43,75% e RIOZOO 75%) mostrou diferenças estatísticas significativas $p < 0.05$ entre os dois zoológicos. Os níveis de percepção de riscos dos trabalhadores investigados não foram estatisticamente diferentes entre os dois zoológicos com relação a competência profissional.

Palavras-chave: trabalhadores ocupacionalmente expostos, *Toxoplasma gondii*, percepção de risco, competência profissional.

INTRODUCTION

Currently, there are many factors that increase zoonosis occurrence like toxoplasmosis, such as: contact with wildlife and domestic animals and animal migration (URIBARREN, 2014). Migration among countries also favors the importing of infectious agents, identified or not, causing impact in the epidemiological condition of emerging and re-emerging infectious diseases in different regions Monsalve *et al.* (2009) Other factors such as the increase of human population, pollution, animal production expansion, climate change, soil usage, transportation of sick people and animals Zanella (2016), among other factors can

contribute the parasites expansion.

Workers in veterinary centers and zoological gardens are among the ones who are mostly exposed to different professional risks related to exposure to biological agents (GONZÁLEZ, 2013) through close contact with animals, secretions, excretions products or byproducts, as well as work instruments contaminated with infectious agents. These are some of the most frequent factors found in the profession that might favor the transmission of pathogens in the profession (NORWOOD *et al.* 2000; LUCAS *et al.* 2012).

Toxoplasmosis, in particular, is one of the most known parasitic zoonosis and

is produced by protozoan *Toxoplasma gondii* Gómez (2013). This coccidium is widely distributed all over the world, with a large number of intermediate hosts, including man Artigas *et al.* (2012). It is estimated that the prevalence of toxoplasmosis varies from 20% to 90% in the global human population (SIBLET *et al.*, 2009; AMENDOEIRA e CAMILO-COURA, 2010). Some factors may impact the infection installation by *Toxoplasma gondii*, for instance: the abundance of infective forms in the environment, the non-controlled animal population and people's conduct Navarro (2015).

METHODS

The concept used for variables 'risk perception' and 'professional competence' followed the definitions preconized by Frederico Peres (2010) and Philippe Zarifian (2001).

Risk perception: ability to interpret a situation which is potentially harmful for health. One must take into account that risk perception is based on different knowledge backgrounds (PERES, 2010).

Professional competence: Knowledge combination of know-how, experiences and behaviors that executed in a precise context. Competence is 'initiative taking' by the individual before

professional situations (ZARIFIAN, 2001).

ETHICAL CONSIDERATIONS

The present study, approved by the Research Ethics Committee of Foundation Oswaldo Cruz-Fiocruz/IOC, CAAE 49773215.7.0000.5248, was developed with exposed workers, that is, those who are in direct contact with animals or its secretions at the National Zoological Park of Cuba and at the Zoological Garden Foundation of the City of Rio de Janeiro, RIOZOO. All workers that agreed to take part in this research signed a Free Informed Consent Form.

In order to determine prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* titles, blood was collected from workers with disposable syringes. Samples were analyzed at the Toxoplasmosis Laboratory at the 'Pedro Kouri' Tropical Medicine Institute in Cuba and in the Laboratory of Toxoplasmosis and other Protozosis at Institute Oswaldo Cruz/Fiocruz, RJ, Brazil. For antibody anti-*T.gondii* detection, the techniques ELISA (immunoenzymatic assay) and IFAT (indirect fluorescent antibody test) were used.

To evaluate 'risk perception' and 'professional competence' the questionnaire 'Methodology for analysis of

some indicators of risk associate to territorial handling of zoonosis', developed in Cuba by Dra. Suárez and collaborators (2006) (SUÁREZ *et al.*, 2006) and modified (2007) (SUÁREZ *et al.*, 2007). For the evaluation of responses obtained through questionnaire the following criteria was used:

- To YES or NO questions, 2, 1 or 0 points were granted to correct responses, abstentions or incorrect responses, respectively;
- Multiple choice questions received 2, 1 and 0 points for responses: ALWAYS,

SOMETIMES AND NEVER, respectively;

- To the total points obtained in each questionnaire, the category amplitude was calculated divided by the total of nominal categories, giving the result nominal category HIGH, MEDIUM AND LOW for the evaluated indicators.

In order to analyze each indicator, the questions made by the methodological procedure are summed (Table 1) and punctuation intervals are established for each one of the categories.

Table 1. Qualification and analysis of questionnaires according to Suárez *et al.* (2006), (2007).

Groups to be researched	Analyzed indicator	Used questions	Nominal categories intervals		
			HIGH	MEDIUM	LOW
Members of the Veterinary Services with University degree	Risk Perception	1, 2	≥ 1	2 - 3	≤ 4
	Professional Competence	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	≥ 12	11 - 6	≤ 5
Workers with University degree non-veterinary with oral labor risks (Biologists)	Risk Perception	1, 2, 3	≥ 5	4 - 3	≤ 2
	Professional Competence	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	≥ 11	10 - 6	≤ 5
Members of the Veterinary Services with Secondary School level (Technicians)	Risk perception	1, 2, 3, 4, 5	≥ 8	7 - 4	≤ 3
	Professional Competence	6, 7, 8, 9, 10	≥ 8	7 - 4	≤ 3
Service staff/Caretakers	Risk Perception	1, 2, 3, 4, 5	≥ 8	7 - 4	≤ 3
	Professional Competence	6, 7, 8, 9, 10	≥ 8	7 - 4	≤ 3

Test χ^2 was made using software Epidat 3.1 (2006) for variable correlation: 'risk perception' and 'professional competence', using the 'risk perception' as an

independent variable in each group.

According the responses of the researched workers, the main risks and likelihood of the disease happening were selected, considering criteria of Organismo

Internacional Regional de Sanidade Agropecuária (OIRSA) (2006) for the risk evaluation procedure.

The frequency according to work areas was also calculated: areas in which the etiologic agent is more frequent were considered of higher risk. In these areas, one can find: the space for felines and other carnivorous species that are definite or indefinite hosts for *Toxoplasma gondii*; the laboratory, for being the area where one can find secretions and excretions of sick animals; the veterinary clinic, for being the place where sick animals stay. In these environments of larger exposure, workers can become contaminated and become spreader of the etiologic agent.

Work areas of lower risks are those environments where the ungulates and primates are found, and the area of animal food preparation. In these areas, the etiological agent presents less probability of infecting workers.

RESULTS

Participated in the research 79 workers from the Cuba National Zoological Garden and 54 workers from RIOZOO, all with occupational hazard of exposure. Were grouped according to different indicators (period of work, area of work and occupation).

Firstly, was calculated the frequency of the indicator related to period of work in both institutions (Table 2). Research participants were divided into two groups: those with more than 10 years working with zoological animals and those with less than 10 years in this kind of work. The frequency by period of work indicates that only 46% and 39% of workers at the Cuba National Zoological Park and at RIOZOO, respectively, remain executing their activities in the institutions for more than 10 years.

Table 2. Frequency of workers investigated at the National Zoological Park of Cuba and RIOZOO, according to area of work and to period (years)

Area of work	Number of workers /area of work		Relative frequency		(%)	
	National Zoo. Park of Cuba	RIOZOO	National Zoo. Park of Cuba	RIOZOO	National Zoo. Park of Cuba	RIOZOO
> risk ^(*)	30	29	0,38	0,54	38	54
< risk ^(**)	49	25	0,62	0,46	62	46
Years of work	Number of workers/years of work		Relative frequency		(%)	
>10 years	36	21	0,46	0,39	46	39
< 10 years	43	33	0,54	0,61	54	61
Total	79	54	1	1	100	100

^(*) Clinic, Laboratory, Feline area and other carnivorous animals area. *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v.6, n. 1, p. 016-029, 2019

^(**) Area for animal food preparation, Area of primate animals, Area of ungulates.

Assessment professional competence and risk factors perception of *Toxoplasma gondii* at the Cuba National zoo park and zoo garden of Rio de Janeiro, Brazil

At the Cuba National Zoological Park, the relative frequency indicates that the larger positive cases of workers executing their functions in lower risk

areas was 62 % (Table 2). However, at RIOZOO, the higher frequency was 54% in higher risk areas.

In the research, were also evaluated the seroprevalence by infection per period of work based on diagnosis techniques ELISA and IFAT. Results demonstrate that workers with over 10 years of service present high levels of contamination on

both zoological gardens. With a percentage of 52,8% for ELISA as well as IFAT at the Cuba National Zoological Park and 85,7% for ELISA and 81% for IFAT at RIOZOO (Table 3).

Table 3. Seroprevalence anti-*T.gondii* in workers at National Zoo. Park of Cuba and at RIOZOO, according to period of to work and area of work used laboratory techniques

Diagnosis techniques	Seroprevalence by period of work															
	> 10 years						< 10 years									
	National Zoo. Park of Cuba				RIOZOO		National Zoo. Park of Cuba				RIOZOO					
	Investigated	+	Fp	%	Investigated	+	Fp	%	Investigated	+	Fp	%	Investigate d	+	Fp	%
ELISA (***)	36	19	0,53	52,8	21	18	0,86	85,7	43	18	0,42	41,9	33	18	0,55	54,5
IFAT (****)	36	19	0,53	52,8	21	17	0,81	81	43	16	0,37	37,2	33	17	0,52	51,5
	Seroprevalence by area of work															
	> risk [*]						< risk ^{**}									
	National Zoo. Park of Cuba				RIOZOO		National Zoo. Park of Cuba				RIOZOO					
	Investigated	+	Fp	%	Investigated	+	Fp	%	Investigated	+	Fp	%	Investigate d	+	Fp	%
ELISA	30	14	0,47	46,7	29	8	0,28	27,6	49	23	0,479	46,9	25	17	0,68	68
IFAT	30	13	0,43	43,3	29	7	0,24	24,1	49	24	0,49	49	25	17	0,68	68

(^{*}) Veterinary clinic, Laboratory, area of felines and other carnivorous animals' areas.
 (^{**}) Area of animal food preparation, area of primate animals, area of ungulates.
 +: positive cases
 Fp: Functional prevalence
 (***) ELISA (immunoenzymatic assay)
 (****) IFAT (indirect fluorescent antibody test)

Table 3 refers to the seroprevalence by infection to parasite *T. gondii* using

techniques ELISA and IFAT per higher or lower risk area. Results point to a higher

Assessment professional competence and risk factors perception of *Toxoplasma gondii* at the Cuba National zoo park and zoo garden of Rio de Janeiro, Brazil

seroprevalence in low level risk areas with a percentage of 49% at the Cuba National Zoological Park and 68% at RIOZOO. In general, the study demonstrates that labor practices used by workers, both at the Cuba National Zoological Park and at RIOZOO should be improved.

Table 4 shows seroprevalence results per professional occupation, where one can notice that the higher positive case numbers are among service staff (caretakers, laboratory assistants), which presented the higher number of seroreagent for infection by *T. gondii*. In this case, the

technique results were of 65% for ELISA and 60% for IFAT, at the Cuba National Zoological Park, and 76,47% for ELISA and 70,58% for IFAT at RIOZOO from seroreagent workers for infection by *T. gondii*. In the results related to veterinary technicians, there were statistically significant differences in which $p \leq 0.05$. Also when making a comparison between the professions in each one of the zoos, it is important to highlight that it was the veterinary technicians who presented a higher frequency.

Table 4. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* in workers occupationally exposed at the National Zoo. Park of Cuba and at RIOZOO, according to professional occupation and by used laboratory techniques used.

OCCUPATION PROFISSIONAL	TOTAL		ELISA seroreagents ^a			IFAT seroreagents ^b		
	National Zoo. Park of Cuba	RIOZOO	Number (%) positives National Zoo. Park of Cuba	Number (%) Positives RIOZOO	P- value	Number (%) Positives National Zoo. Park of Cuba	Number (%) Positives RIOZOO	P- value
Veterinary Doctor	5	7	2 (40)	3 (42,85)	0,19	2 (40)	2 (28,57)	0,18
Other Professionals	6	6	2 (33,3)	2 (33,33)	0,19	2 (33,33)	2 (33,33)	0,19
Veterinary Technicians	48	24	21 (43,7)	18 (75)	0,01	20 (41,67)	19 (79,16)	0,03
Service de Staff	20	17	12 (60)	13 (76,47)	0,10	13 (65)	12 (70,58)	0,11

^a Positives test ELISA

^b Positives test IFAT

The other professional groups maintained a similar behavior. In general,

one can affirm that on both institutions there is a high frequency of seropositivity

for anti-*T. gondii* in exposed professionals.

Risk factors related to infectious or parasitary zoonosis in environments where wildlife animals stay increase the likelihood that the contamination risk is higher. Among them, one can state hygiene and handling practices, as well as the veterinary attention that allows even more increase of likelihood of disease manifestation.

The main risk factors related to the presence of titles anti-*T. gondii* in occupationally exposed workers at the Cuba National Zoological Garden and RIOZOO are: 1-Manipulation of animals and their products, secretions, excretions, etc., without the use of gloves; 2-Bad hygiene habits after handling of animals; 3-Accidents with contaminated instruments and materials; 4-Improper use of installations destined to animals or to maintaining personal or work belongings; 5-Animal handling in non-appropriate places; 6-Not wearing gloves or other ways of protection; 7-Improper use of animals installations, used to store personal or work; 8-Incorrect control of vectors; 9-Feline presence at food storage place; 10-Contaminated drinkable water; 11-Consumption of raw meat and improper cleaning of fruits and vegetables; 12-Animal handling in non-appropriate

places.

Table 5 shows the variable evaluation of "risk perception" and "professional competence" of workers with occupational hazard in both zoological gardens. There one can observe a **HIGH**(100%) risk perception in the group of veterinary doctors at the Cuba National Zoological Park and among veterinary doctors at RIOZOO it was between **HIGH** and **MEDIUM** (66,66 % and 33,33 %). In relation to the professional competence the tax obtained was between **HIGH** and **MEDIUM**, (60% and 40%), at the Cuba National Zoological Park. At RIOZOO, these percentage number were: **MEDIUM** (50%), **LOW** (33,33%) and **HIGH** (16,67%). These numbers show a lack of worry on behalf of veterinary doctors, only 16,67% wore the individual protection equipment for working with animals, and these professionals also did not have good hygiene habits after work. In the case of other University level professionals, risk perception stayed between **HIGH** and **MEDIUM** (50%), at the Cuba National Zoological Park. At RIOZOO, this perception was **HIGH** (66,66%) and **MEDIUM** (33,33%). Other University level professionals had, in relation to professional competence, a rate among **HIGH** (50%), **MEDIUM** (33,33%) and

Assessment professional competence and risk factors perception of *Toxoplasma gondii* at the Cuba National zoo park and zoo garden of Rio de Janeiro, Brazil

LOW (16,67%) in this group at the Cuba National Zoological Park. At RIOZOO, it varied among **MEDIUM** (66,6%) and **HIGH** (33,33%). Therefore, statistics

show that there were no significant difference among professional occupations.

Table 5. Risk perception behavior and professional competence of workers occupationally exposed per professional occupation professional.

PROFESSIONAL OCCUPATION	RISK PERCEPTION		PROFESSIONAL COMPETENCE	
	National Zoo. Park of Cuba	RIOZOO	National Zoo. Park of Cuba	RIOZOO
Veterinary	High → 100%	High → 66,66%	High → 60%	High → 16,67%
Doctor		Medium → 33,33%	Medium → 40%	Medium → 50%
				Low → 33,33%
Other Professionals	High → 50%	High → 50%	High → 66,66%	High → 33,33%
	Medium → 50%	Medium → 33,33%	Medium → 33,33%	Medium → 6,66%
		Low → 16,37%		
Veterinary	High → 58,33%	High → 50%	High → 64,58%	High → 20%
Technicians	Medium → 53,33%	Medium → 33,33%	Medium → 22,92%	Medium → 72%
	Low → 8,33%	Low → 8%		Low → 8%
Service staff	High → 30%	Medium → 66,66%	High → 20%	Medium → 86,67%
	Medium → 60%	Low → 33,33%	Medium → 45%	Low → 13,33%
	Low → 10%		Low → 13,33%	

DISCUSSION

The study presents the main risk factors for exposure and the behavior for risk perception and professional competence. It is important to highlight that workers at veterinary centers and zoological gardens are among the group of people who are mostly exposed to several

risks associated to biological agents exposure (GONZÁLEZ, 2013).

After calculating the workers frequency, according to the years of work, it was observed that the smallest frequency is among those with less than 10 years of work, which was to be expected, because the longer the time exposed to risk factors,

the higher the change of getting in contact with the protozoan due to its diverse transmission mechanisms. However, it must be highlighted that in one's personal life, the person may, at some point, have contact with one of the infection mechanisms. This fact indicates that, because they are people with work experience, they should have more consciousness at work about animal safety protection measures Alonso *et al.* (2015).

According to the existence of a higher frequency of positive workers in areas of lower risk, we can affirm that in these areas, there are sufficient risk factors associated with toxoplasmosis and that poor management practices and work hygiene could increase the risk of presentation of the disease.

Among the professional occupation mostly exposed to zoonosis are the veterinary doctors and technicians (LECAROS *et al.*, 2010). Observed that service staff and caretaker were the ones more exposed, that is, they presented a higher frequency of positive serologic results. Because they are the most exposed to contracting zoonotic diseases through direct contact with animals. In addition to the possibility of not using adequate means of protection

It is the first step towards initiating a

program for fighting and controlling these diseases Miller *et al.* (2000), besides highlighting that the demands of any action to the prevention and control of these diseases is vigilance Alonso *et al.* (2015).

OIE (2015, 2017) designates as basic competences for veterinarians the knowledge, skills and attitudes required so that a state veterinary organization enables the practice of the profession. This group must have the theoretical knowledge and capacitation for avoiding the risk of zoonotic diseases (HANTISCH-KIRKBRID *et al.*, 2013).

Besides that, veterinary doctors, on account of their professional activities, are constantly exposed to risk (ALONSO *et al.*, 2015). This is explained due to the fact that in some activities inherent to the profession, such as veterinary assistance, there is risk of contamination by some zoonosis, which is a condition assumed as 'inevitable' by the professional during the labor period (GARCÍA, 2013; OIE, 2017).

Nevertheless, veterinary doctors and technicians also have their part in complying with OIE's (OIE, 2009, 2017) mandate and, therefore, their professional competence cannot be of low level, in case they come from a country which is part of member of this intergovernmental organization.

FINAL CONSIDERATIONS

The present study is pioneer for making an analysis of variables 'risk perception' and 'professional competence' in two zoological gardens (Cuba National Zoological Park and RIOZOO), demonstrating that there is a lack of knowledge related to zoonosis. This result confirmed by the presence of antibody anti-*T. gondii*, which have higher frequencies among technical professionals that mainly work in lower risk areas. This is related to the perceived risk levels of occupationally exposed workers. This fact is an institutional challenge in the differential education to reduce health risks to workers.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would thank the workers at the Cuba National Zoological Park and at RIOZOO, who took part in this research and the staff at the Toxoplasmosis Laboratory at the "Pedro Kouri" Tropical Medicine Institute in Cuba and at the Toxoplasmosis and other Protozoosis Laboratory at Institute Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro in Brazil, where the samples of workers were processed.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

FINANCIAL SUPPORT

The authors gratefully acknowledge the Brazilian research funding agency: Coordination of Improvement of Higher Level Personnel [Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)] for their financial support of this research.

REFERENCE

- ALONSO, R.; SOLANS, X.; CONSTANS, A. Centros veterinarios: exposición laboral a agentes biológicos. Notas técnicas de prevención. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. Chile. 2015.
- AMENDOEIRA, M.R.R.; CAMILO-COURA, L.F. Uma breve revisão sobre a toxoplasmose na gestação. *Scientia Medica*, Porto Alegre 2010; 20(1): 113-119.
- ARTIGAS, R.; GÓNGORA, W.; COBOS, D.; GOYA, Y.; MIRANDA, A. Aspectos básicos sobre la patogenia, respuesta inmune y bioseguridad en el trabajo con el *Toxoplasma gondii*. Centro de Inmunología y Biopreparados. Holguín. Cuba. Correo Científico Médico.

2012;16(1).

EPIDAT 3.1. Software recomendado pela OPS/OMS para o processamento de dados nos análise epidemiológicos.2006.

GARCÍA, I. Los riesgos laborales y la profesión veterinaria. 2013. Available from: <http://www.seguridad-laboral.es/prl-por-sectores/agroalimentario/los-riesgos-laborales-y-la-profesion-veterinaria>.

(Accessed on 23 November 2017).

GONZÁLEZ, B. Riesgos de zoonosis en zoológicos y centros veterinarios. 2013. Available from:

<http://www.preving.com/index.php/actualidad/los-expertos-de-preving/item/414-riesgos-de-zoonosis-en-zool%C3%B3gicos-y-centros-veterinarios.html>. (Accessed on 1

December 2017).

GÓMEZ, R.A. La vigilancia epidemiológica de las enfermedades zoonóticas en la coordinación de zoonosis del estado Táchira – Venezuela. Revista de Investigación en administración e ingeniería. 2013;1:24–34. Available from: <http://service.udes.edu.co/revistas/index.php/aibi>. (Accessed on 3 March2017).

HANISCH-KIRKBRID, S.; RILEY, S.; GORE, M. Wildlife disease and risk perception. J Wildlife Diseases. 2013;49(4):84–849.

LECAROS, A.; FALCÓN, C.; ELÍAS, R.

Accidentes ocupacionales y zoonosis en profesionales que laboran en zoológicos y zocriaderos de Lima, Perú. Revista Sapuvet de Salud Pública 2010; 2:27–42.

LUCAS, M.; DAY, L.; FRITSCHI, L. Serious injuries to Australian veterinarians working with cattle. Austr Vet J. 2012;91(1-2):57–60.

MILLER, D.S.; MITCHEL, G.F.; BIGGS, B.; MCCRAKEN, H.; MYRONIUK, P.; HEWISH, M. Agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* insert from captive eastern barred bandicoots in Australia. J. Wildlife Disease 2000;36(2):8–32.

MONSALVE, S.B.; MATTAR, S.V.; GONZÁLEZ, M.T. Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina Veterinaria. Departamento de Ciencias Pecuarias. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Montería, Córdoba, Colombia. Rev MVZ, Córdoba. 2009; 14(2):1762–1773.

NAVARRO, D.M.; CHÁVEZ, A.V.; PINEDO, R.V.; MUÑOZ, K.D. Factores de Riesgo Asociados a la Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en Mamíferos del Orden Carnívora y Primates Mantenidos en Cautiverio. Rev Inv Vet Perú 2015; 26(3):497-508.

NORWOOD, S.; MCAULEY, C.;

VALLINA, V.L.; FERNÁNDEZ, L.G.; MCLARTY, J.W.; GOODFRIED, G. Mechanisms of patterns of injuries related to large animals. *J. Trauma*. 2000;(48):740-744.

ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDADE AGROPECUÁRIA (OIRSA); OIE para as Américas. *Análises de Risco. Guia Prática*. 2006.

Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE). *Proyecto de recomendaciones. Una formación veterinaria en evolución para un mundo más seguro*. 12-14 de octubre. París, Francia 2009. Available from: <http://www.oie.int/es/para-los-periodistas/comunicados-de-prensa/detalle/article/evolving-veterinary-education-for-a-safer-world/>. (Accessed on 2 April 2017)

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE). *Informe de la reunión del grupo de trabajo sobre las enfermedades de los animales salvajes*. 2015. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/WD_ES.pdf. (Accessed on 5 September 2017).

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE). *Plan de Estudios Básico de Formación Veterinaria Directrices de la OIE*. Available from:

http://www.oie.int/Plan_de_Estudios_Basico_de_Formacion_Veterinaria.pdf.

(Accessed on 27 March 2017).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SANIDADE ANIMAL (OIE). *Recomendaciones de la OIE sobre las competencias mínimas que se esperan de los veterinarios recién licenciados para garantizar Servicios Veterinarios Nacionales de calidad*. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Support_to_OIE_Members/Edu_Vet_AHG/day_1/DAYONE-B-esp-VC.pdf.

(Accessed on 27 March 2017).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SANIDADE ANIMAL (OIE). *Recomendaciones de la OIE sobre las competencias mínimas que se esperan de los veterinarios recién licenciados para garantizar Servicios Veterinarios Nacionales de calidad*. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Support_to_OIE_Members/Edu_Vet_AHG/day_1/DAYONE-B-esp-VC.pdf.

(Accessed on 27 March 2017).

PERES, F. Onde Mora o Perigo? Percepção de riscos, ambiente e saúde. In: de Souza, MCM & Carvalho, A. *Saúde e ambiente sustentável: estreitando nós*. Parte II.3. Ed. Fiocruz. 2010.135-138.

SIBLEY, D.; KHAN, A.; AJIOKA, W.; ROSENTHAL, B. Genetic diversity of

Toxoplasma gondii in animals and humans. Philosophic Transact Royal Society. 2009;364:2749–61.

SUÁREZ, Y.; FABRÉ, Y.; SOCA, M.; FUENTES, M.; CABRERA, C.; ÁLVAREZ, J. Metodología para el análisis de algunos indicadores de riesgo asociado al manejo territorial de las zoonosis. Rev Elect. de Vet. 2006;7(9). Available at: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090906/090615.pdf>. (Accessed on 3 March 2017).

SUÁREZ, Y.; FABRÉ, Y.; SOCA, M.; FUENTES, M. Propuesta de acciones de reducción de riesgos de servicios veterinarios –servicios de salud pública– intersectoriales. Resultado Terminado base Técnica para el análisis, Manejo y reducción de Riesgos de presentación de enfermedades zoonóticas y transmitida por alimentos (ETA) asociados o no a la ca. Cap 3. 2001.68–78.

ocurrencia de desastres naturales hidrometeorológico. La Habana, Cuba: informe de Proyecto. Proyecto Territorial CITMA/Habana. 2007; 7(8). Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/636/63612734006.pdf>. (Accessed on 3 March 2017).

URIBARREN, T. Zoonosis y parasitosis emergentes. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. 2014. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/zoonosis-y-emergentes.html>. (Accessed on 9 November 2017).

ZANELLA, J.R. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. Pesq. Agropec. Bras. Brasília. 2016; 51(5): 510– 519.

ZARIFIAN, P. Objetivos competência: por uma nova lógica

ANEXO 8.– Trabalhos apresentados em congressos

Evento: 52 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Local: Maceió-AL

Data: 21 a 24 de agosto de 2016

Modalidade: Pôster



Certificado

Certificamos que o trabalho intitulado

Fatores de risco da transmissão do *Toxoplasma gondii* associado a atividades ocupacionais de trabalhadores do Zoológico Nacional de Cuba e do RioZoo, Brasil

dos autores

Ginette Villar Echarte; Anderson Mendes Augusto; Yolanda Emilia Suárez Fernández; Ana Leticia Carvalho Santos; Marcia Macedo Lima Dantas; Maria Regina Reis Amendoira

foi apresentado na área de Outras infecções parasitárias
na forma de Poster durante o 52º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE
MEDICINA TROPICAL, realizado no período de 21 a 24 de agosto, no Centro Cultural e
de Exposição Ruth Cardoso em Maceió/AL.

Maceió, 24 de agosto de 2016.


Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda
Presidente da Sociedade
Brasileira de Medicina Tropical


Fernando de Araújo Pedrosa
Presidente do 52º MedTrop

Evento: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA

Local: Búzios-RJ

Data: 03 a 06 de setembro de 2017

Modalidade: Pôster



XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA

De 03 a 06 de setembro de 2017 - Búzios – Rio de Janeiro

Certificado

Certifica que *Ana Leticia Santos, Ginette Villar Echarte, Anderson M. Augusto, Bárbara S.N. Magalhães, Pâmela Figueiredo Pereira, Igor Falco Arruda, Luísa J.B.B. Ribeiro, Valmir Laurentino Silva and Maria Regina Amendoeira* participaram do XXV Congresso Brasileiro de Parasitologia, realizado em Búzios, de 03 a 06 de setembro de 2017, no Rio de Janeiro, com o trabalho *Occurrence of antibodies IgG anti-Toxoplasma gondii in ducks (Cairina moschata) of Fundation RIOZOO, Rio de Janeiro, Brasil*

Rio de Janeiro, 6 de Setembro de 2017

Dr. José Roberto Machado e Silva
Presidente

Dr. José Mauro Peralta
Presidente Comissão Científica

Evento: 54 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Local: OLINDA-PE

Data: 02 a 05 de setembro de 2018

Modalidade: Pôster



MEDTROP 2018

CERTIFICADO

54º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL

02 a 05 Setembro 2018
Centro de Convenções de Pernambuco
Olinda PE

Certificamos que o trabalho **SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR TOXOPLASMA GONDII EM ANIMAIS SILVESTRES CATIVOS DO ZOOLOGICO NACIONAL DE CUBA** cujos autores são: **GINETTE VILLAR ECHARTE, RAIDEN GRANDÍA GUZMÁN, HIRAM FERNÁNDEZ CASTELLANOS, RUSELA MARBEL JUBÁN OLIVA, MARIA REGINA REIS AMENDOEIRA AMENDOEIRA** foi apresentado no 54º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL – MEDTROP 2018, realizado no período de 02 a 05 de setembro de 2018, no Centro de Convenções de Pernambuco, Olinda – PE, na modalidade E-POSTER.

Olinda/PE, 05 de setembro de 2018.

Realização



SBMT
SOCIEDADE BRASILEIRA
DE MEDICINA TROPICAL

Sinval
Sinval Pinto Brandão Filho
Presidente do MEDTROP 2018

Apoio



Evento: XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária

Local: Londrina-PR

Data: 17 a 19 de setembro de 2018

Modalidade: Pôster



XX Congresso Brasileiro de Parasitologia VETERINÁRIA
Realidade e Perspectivas: da pesquisa à prática

Certificado
17 a 19 de setembro de 2018 - Parque Geremiano: Hig. Braga, Londrina, PR

Certificamos que o trabalho intitulado

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Toxoplasma gondii* EM ANIMAIS SILVESTRES CATIVOS DO JARDIM ZOOLOGICO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

de autoria de ECHARTE, G.V.; ZANOTTO, P.F.C.; GAVA, M.Z.; ARRUDA, I.F.; MENDES, A.A.; TROCCOLI, F.; LANGONI, H.; AMENDEIRA, M.R.R.; foi apresentado na modalidade pôster, na Sessão de Protozoologia no XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, realizado de 17 a 19 de setembro de 2018, em Londrina, PR.

Prof. Dr. George Rego Albuquerque
Presidente do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária

Prof. Dr. João Lúti Garcia
Presidente do XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária

Promoção e realização: CBPV, Universidade Estadual de Londrina

Patrocínio Flamarre: MSD Saúde Animal

Patrocínio Fozta: Fozta

Apoio: CAPES, FAPESP, FINEP