



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

CAROLINA MARIA DE ALMEIDA BARBOSA

OCORRÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM AVES DOMÉSTICAS

ILHÉUS - BAHIA

2020

CAROLINA MARIA DE ALMEIDA BARBOSA

OCORRÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM AVES DOMÉSTICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Clínica e Sanidade Animal Orientador: Prof. Dr. Amauri Arias Wenceslau

ILHÉUS-BAHIA

2020

CAROLINA MARIA DE ALMEIDA BARBOSA

OCORRÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM AVES DOMÉSTICAS

Ilhéus – Bahia,

---

Prof. Dr. Amauri Arias Wenceslau

DCAA/ UESC

(Orientador)

---

Profa. Dra. Daniele de Santana Rocha

DCAA/ UESC

---

Prof. Dr. Rodrigo Alves Bezerra

CESUPI - Faculdade de Ilhéus

Ilhéus-Bahia

2020

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a Maria Helena Coelho Cruz, se não foi sua ajuda e empenho não teria conseguido. Amo você!

## AGRADECIMENTOS

Foram dias muito difíceis e ao mesmo tempo maravilhosos! Nunca imaginei que seria assim desse jeito e não tem como chegar até aqui sozinha, sou só gratidão mesmo! Hoje eu não sou a mesma pessoa quem entrei e agradeço imensamente a todos que direta ou indiretamente me ajudaram.

Obrigada à Deus por me dá força de onde eu achava que nem tinha mais.

Obrigada à Frank, meu companheiro, meu marido, namorado, a melhor pessoa do mundo que eu conheço e que aguentou todas as minhas crises. Te amo, panda!

Obrigada à Camila, minha Mila, minha metade, meu tudo, minha alma gêmea, minha cúmplice de todas as horas e momentos. Um só “eu amo você” é muito pouco pra descrever o que você significa para mim.

A minha gêmea 2, Lena, você não tem noção do quanto estou grata por cada coisa que você fez por mim, isso é amizade de verdade. Te amo mais!!!

Obrigada a cada um da minha família: meus pais, Flaviano e Célia, os melhores pais do mundo. As minhas irmãs, Simone, Marcia e Mirtes, porque só tem mulher forte nessa gangue. Aos meus sobrinhos mais lindos e amados do mundo, Wilson, Giovanna e Enzo. Ao melhores cunhados que eu poderia ter: Digo e Gil, só vocês para aguentar tanto. Amo cada um de vocês!!!

Obrigada aos irmãos que ganhei em forma de amigos: Selma, Diego, Tarta, Elvis, Tati, Dani e Luís. Aos meus melhores presentes, ser dinda de Carolzinha, minha pequena-grande terrorista; Esther, a estrela mais linda e brilhosa de todas e o maior de todos big bigs do mundo, a grande lontra e o melhor presente que ganhei na vida, Enzo.

Obrigada aos amigos do mestrado da UESC: Rebeca, Sophia, Valclei e Vanessa. Como teria sido tão mais difícil se não fossem vocês. Aos presentes do Laboratório de Genética: Josy, Nathy, Ju e Teillor. Vocês são incríveis!! A gente sempre se ajudou tanto, e quando um chorava todo mundo chorava junto e quando era para ri e comemorar a gente tava junto também. E o que esse laboratório junta ninguém separa.

Não tenho nem palavras para agradecer a Gabi que foi um anjo nessa reta final, você que me acalmava e que sempre me dizia que ia dar tudo certo e sempre me recebia com um sorriso no rosto e nunca reclamou dos meus enjoos. Você foi INCRÍVEL!!! Muito obrigada mesmo!

A Hellen, que chegou nos 45 do segundo tempo e fez tanta coisa por mim. Você me ensinou demais, me ajudou demais. Muito obrigada!

Agradeço imensamente a Pedro, se não fosse por ele eu nunca estaria aqui, se não fosse a ajuda dele eu nunca teria conseguido. Ele que me acalma tanto. Você é e sempre será um amigo especial.

Obrigada a minha sogra Mercedes, meu pedacinho de gente Bia, meu marido dois Danilo. Ao meu primo Irmão, Flávia e Wanessa, e a todos que de forma direta ou indiretamente me ajudaram a chegar até aqui. Muito obrigada mesmo!

E, ao mais importante obrigada é para o Prof. Dr. Amauri, que sempre acreditou em mim e me deu a chance de realizar esse sonho. Meus agradecimentos mais sinceros.

A Universidade Estadual de Santa Cruz, em especial ao hospital veterinário, pela oportunidade de aprendizagem. A CAPES pela concessão da bolsa de estudos e ao apoio financeiro do CNPQ, FAPESB e CAPES.

OCORRÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM AVES DOMÉSTICAS

## RESUMO

O *T. gondii* é um agente etiológico causador da Toxoplasmose, podendo ser adquirida através da ingestão fecal-oral, carnivorismo ou congênita. A doença é uma zoonose, frequente em várias espécies de mamíferos (carneiro, cabra, porco, gato e outros felídeos) e aves. Objetivou-se determinar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ecótipos de galinha Caneluda, Peloco, e Meia Perna. Peru, Galinha d'angola, Galinha d'angola "Pampa", Pato e Ganso, em um Setor de Avicultura da Universidade Estadual do Sul da Bahia, situada em Itapetinga. As aves são criadas em piquetes telados com graminias da espécie Tifton 85, com comedouros e bebedouros a vontade. Há circulação de uma colônia de gatos entre todos os piquetes, assim como há uma rotação de piquetes entre as aves citadas. Foram coletadas 160 amostras de sangue de aves, sendo 20 amostras de cada grupo: Caneluda, Peloco, Meia Perna, Peru, Cocar, Pampa, Pato e Ganso. O sangue foi coletado da veia ulnar, armazenado em tubos estéreis, e centrifugado por 15 minutos a 25 rpm. Após o dessoramento, foi transferido para eppendorfs, identificados e encaminhados para o laboratório de Genética da Universidade Estadual de Santa Cruz e congelados a -20°C para a realização do sorodiagnóstico que foi realizado através do método de aglutinação indireta (HAI). A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* foi positiva nos ecótipos de galinhas caipiras Caneluda (100%), Peloco (50%) e Meia Perna (40%), Galinha d'angola "Pampa" (5%) e Peru (50%). Por outro lado, não foram encontrados anticorpos anti-*T. gondii* em Galinha d'angola Cocar, Pato e Ganso. Deste modo, é possível sugerir que a ocorrência de *Toxoplasma gondii* é favorecida pelo hábito de alimentar das galinhas e perus, e confirmada pela ausência de anticorpos em patos e gansos, dentro da mesma instituição.

**Palavras chave:** Toxoplasmose, Galinha, Galinha D'Angola, Peru, Pato e Ganso.

## Occurrence of *Toxoplasma gondii* in Domestic Birds

### ABSTRACT

*T. gondii* is an etiologic agent that causes toxoplasmosis, capable of being accessed by oral-fecal ingestion, carnivorism or congenital. The disease is a zoonosis frequent in several species of mammals (sheep, goat, pig, cat and other felids) and birds. Objective: to determine the occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* effects in the Caneluda, Peloco and Meia Perna ecotypes. Peru, Galinha d'angola, Galinha d'angola "Pampa", Pato e Ganso, in an agricultural sector of the Universidade Estadual do Sul da Bahia, located in Itapetinga. The birds are used in roofed paddocks with species of the Tifton 85 species, feeders and drinking fountains at will. There is a circulation of a colony of cats among all the paddocks, just as there is a rotation of paddocks among the birds mentioned. 160 samples of blood from birds were collected, 20 samples from each group: Caneluda, Peloco, Meia Perna, Peru, Cocar, Pampa, Pato and Ganso. The blood was collected from the ulnar vein, stored in sterile tubes and centrifuged for 15 minutes at 25 rpm. After desorption, he was transferred to eppendorfs, and sent to the genetics laboratory of the Universidade Estadual De Santa Cruz and frozen at -20 °C to perform a serodiagnosis, which was carried out using the indirect agglutination method (HAI). The occurrence of anti-T antibodies. *gondii* was positive in the free-range hens Caneluda (100%), Peloco (50%) and Meia Perna (40%), Galinha d'angola "Pampa" (5%) and Peru (50%). On the other hand, no anti-T antibodies were found. *gondii* in Chicken Hen Head, Duck and Goose. In this way, it is possible to suggest that the occurrence of *toxoplasmosis gondii* is favored by the consumption of food from chickens and turkeys, and confirmed by the loss of storage in ducks and geese, within the same institution.

Keywords: Toxoplasmosis, Chicken, Galinha D'Angola, Peru, Duck and Goose.



**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figuras</b>	<b>Páginas</b>
1. Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i> .....	18
2. Galinha Meia Perna (A) e caneluda (B) .....	24
3. Galinha d`angola cocar (A) e Galinha d`angola albina (B) .....	25
4. Patos e Gansos .....	26
5. Perus .....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Páginas
1. Análise sorológica de <i>Toxoplasma gondii</i> em soro de sangue de aves .....37	

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	14
2.2 Objetivo geral .....	14
2.3 Objetivo Especifico .....	14
<b>3. REVISAO DE LITERATURA</b> .....	15
3.1 Introdução.....	15
3.2 Agente etiológico.....	15
3.3 Ciclo Biológico.....	16
3.4 Epidemiologia.....	18
3.5 Formas de Transmissão.....	20
3.6 Toxoplasmose em aves .....	21
3.6.1 Toxoplasmose em galinhas .....	22
3.6.2 Toxoplasmose em galinhas d`angola.....	24
3.6.3 Toxoplasmose em patos e gansos .....	25
3.6.4 Toxoplasmose em Peru .....	26
3.7 Diagnostico da Toxoplasmose.....	27
3.7.1 Diagnostico Sorológico de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	28
3.7.2 1Diagnostico molecular de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	29
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
4.1 Analise Sorológicas das amostras.....	31
4.2 Obtenção das amostras de fezes de gatos.....	32
4.3 Análise molecular das amostras.....	32
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	39
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	40
<b>APENDICES</b> .....	46

## 1. INTRODUÇÃO

O brasileiro é o principal consumidor da carne de frango produzida pela avicultura nacional, estima-se agora em 2020, 10 milhões de toneladas produzidas serão destinadas ao mercado consumidor brasileiro (USDA, 2020). A carne de frango é um dos alimentos mais presentes na dieta do brasileiro devido a sua qualidade nutricional, facilidade de preparo, disponibilidade e custo, garantindo a nutrição saudável. Em média, cada brasileiro consome 43 kg de carne frango por ano (EMBRAPA, 2020).

A criação de galinhas caipiras torna-se uma ótima alternativa para a agricultura familiar e para o meio ambiente. Para a família se constituiu mais uma alternativa de renda, alimentos e seus excrementos podem ser utilizados para adubação de fruteiras. Com a implantação de criatórios de galinhas de capoeira as famílias vão poder ter uma melhor alimentação e até gerar lucros. Além disso, é uma atividade totalmente sustentável, e, com o manejo adequado, não há degradação do meio ambiente (BARROS, 2020).

Considerando que o consumo de carne é caracterizado como uma das maiores fontes de infecção para a espécie humana, as estimativas das doenças zoonóticas são essenciais para o monitoramento e melhorias para a saúde pública. A vigilância em laboratório fornece informações cruciais para avaliar tendências e desenvolvimentos de doenças zoonótica (Rong et al., 2014).

A toxoplasmose é causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que tem como hospedeiro definitivo os felídeos e intermediários os animais de sangue quente. Dentre as formas de transmissão, destacam-se o ciclo fecal-oral, o carnivorismo e a via transplacentária (JONES; DUBEY, 2010).

A toxoplasmose é uma das zoonoses parasitárias mais comuns, tanto no homem, como nos animais, apresentando ampla distribuição geográfica, que pode acometer quase todos os animais de sangue quente (Sandström et al., 2013; Clare et al., 2017; Veronesi et al., 2017). Estima-se que mais de um terço da população humana já foi exposta à infecção pelo *Toxoplasma gondii*, o causador dessa doença (TENTER et al., 2000).

A infecção por *T.gondii* ocorre principalmente após ingestão de oocistos presentes em alimentos, solo e água, ou na forma cística do parasito presente na carne mal cozida (ROBERT-GANGNEUX, 2014; DUBEY; JONES, 2008;

Dubey et al., 2005). A maior parte da população humana e animais infectados pelo *T. gondii* são assintomáticos (DUBEY; JONES, 2008), e quando presentes, os sinais clínicos da toxoplasmose são inespecíficos. Indivíduos imunocomprometidos podem desenvolver alterações oftálmicas (MONTROYA, 2002) ou neurológicas (HILL; DUBEY, 2002).

O conhecimento dos fatores de risco à infecção de uma determinada população é de suma importância, pois nem todas as formas de transmissão do parasito têm igual importância na epidemiologia da doença, com variações dos fatores de risco em diferentes grupos culturais (PROSSINGER, 2010; GEBREMEDHIN E TADESSE, 2015).

No Brasil, são escassos estudos sobre toxoplasmose em aves, principalmente nos diferentes tipos de ave como os perus, patos, ganso e galinha d'angola. Deste modo, objetivou-se determinar a ocorrência de anticorpos anti-por *T. gondii* nos ecótipos de galinha caipira Caneluda , Peloco e Meia Perna (*Gallus gallus domesticus*), Peru (*Meleagris gallopavo*), Galinha d'angola (*Numida meleagris*), Galinha d'angola "Pampa" (Albino x cocar gigante), Pato (*Cairina moschata*) e Ganso (*Anser anser*), situadas em um setor de avicultura de uma Instituição de Ensino Superior no Estado da Bahia.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar a ocorrência da toxoplasmose em diferentes tipos de aves situadas em um setor de avicultura de uma Instituição de Ensino Superior no Estado da Bahia.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a ocorrência de anticorpos anti- por *T. gondii* nos ecótipos de galinhas caipiras Caneluda (*Gallus gallus domesticus*), Peloco e Meia Perna, Peru (*Meleagris gallopavo*), Galinha d'angola (*Numida meleagris*), Galinha d'angola "Pampa" (Albino x cocar gigante) Pato (*Cairina moschata*) e Ganso (*Anser anser*);
- Determinar a presença de oocistos de Toxoplasma nas fezes dos gatos presentes nos setores de avicultura e arredores da unidade de ensino.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um agente etiológico causador da Toxoplasmose. Na cadeia epidemiológica da toxoplasmose os felídeos se apresentam como hospedeiros definitivos, sendo responsáveis pela contaminação ambiental.

A toxoplasmose pode ser adquirida através da ingestão fecal-oral, carnivorismo ou de forma congênita. Há inúmeros relatos a respeito da ocorrência de toxoplasmose em inúmeras espécies de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes.

O diagnóstico de toxoplasmose clínico é muito difícil, sendo mais recomendado o diagnóstico laboratorial, que pode ser realizado através de testes parasitológicos, imunológicos ou pela biologia molecular.

#### 3.2 AGENTE ETIOLÓGICO

O *Toxoplasma gondii*, é um agente etiológico causador de uma zoonose de distribuição mundial chamada Toxoplasmose (DUBEY, 2010). O *T.gondii* foi identificado pela primeira vez em 1908 por Splendore, estudando coelhos no Brasil, quando foi classificado inicialmente como pertencente ao gênero *Leishmania*. No mesmo ano, os pesquisadores Nicolle e Manceaux identificaram o parasita em roedores gundis (*Ctenodactylus gondi*) no norte da África. Em 1909, os mesmos propuseram o nome *Toxoplasma gondii* (FERGUSON, 2009).

Hoje considera-se que o *T. gondii* é um parasito eucarioto intracelular obrigatório, pertencente ao Reino Protista, Subreino Protozoa, Filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, Subclasse Coccidia, Ordem Eucoccidiida, Subordem Eimeriina, Família Sarcocystidae, Subfamília Toxoplasmatinae, Gênero *Toxoplasma*, Espécie *T.gondii* (KAWAZOE, 2002).

O *Toxoplasma gondii* já foi isolado em vários tecidos vivos e células nucleadas e, em líquidos orgânicos, como sangue, linfa, saliva, leite (colostro), exsudatos, esperma e líquido peritoneal (KAWAZOE, 2002; AMATO NETO et al., 1995). O mesmo é capaz de invadir e se multiplicar, ainda, em eritrócitos imaturos de mamíferos, cultura de células de peixes e

insetos), podendo ser facilmente mantido em diversas culturas celulares ou passagens em animais (PARK et al., 1993).

### 3.3 CICLO BIOLÓGICO

O *T. gondii* possui ciclo de vida heteroxenos facultativo, isto é, são os parasitas que só completam o seu ciclo evolutivo passando pelo menos em dois hospedeiros. De acordo com Frankel, Dubey e Miller (1970) os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos do *T. gondii*.

Dentro do hospedeiro definitivo o ciclo ocorre no interior do intestino delgado (células epiteliais) e se divide em merogonia (fase assexuada) e gamogonia (fase sexuada) (REY, 1991). Os hospedeiros intermediários podem ser outros: mamíferos, aves, anfíbios, peixes ou répteis. (REY, 1991)

O *Toxoplasma gondii* se apresenta sob três formas: oocisto, taquizoíta, bradizoíta (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998):

**Oocistos** - Os oocistos se desenvolvem no interior das células intestinais dos felídeos não imunes, por meio da reprodução sexuada. São estruturas que medem em torno de 12 x 10µm, esféricas contendo em seu interior dois esporocistos e quatro esporozoítos, respectivamente (KAWAZOE, 2002). De acordo com Amado Neto et al., (1995) e Remington et al. (2001), os oocistos são formas altamente tolerantes, sendo resistentes ao congelamento, ambientes secos e desinfetantes.

Os oocistos não esporulados são liberados nas fezes de felídeos na fase aguda, ocorrendo a esporulação 1 a 5 dias após no ambiente (DUBEY; LINDSAY, 2006). Após a esporulação dos oocistos apresentam dois esporocistos em forma elipsóide que podem sobreviver por mais de um ano, dependendo das condições ambientais favoráveis (SCHLÜTER, et al., 2014).

**Taquizoítas** - Os taquizoítas são a forma responsável pela sintomatologia, sendo encontrados tanto no hospedeiro definitivo quando intermediário na fase aguda (multiplicação rápida), podendo ser encontrados no interior das células infectadas, sangue, linfa e exsudatos (DUBEY et al., 1998).



São estruturas que medem em torno de 4 a 9  $\mu\text{m}$  de comprimento e 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em formato semilunar ou de arco (uma extremidade arredondada e outra afilada), produzida pelo ciclo assexuado (KAWAZOE, 2002).

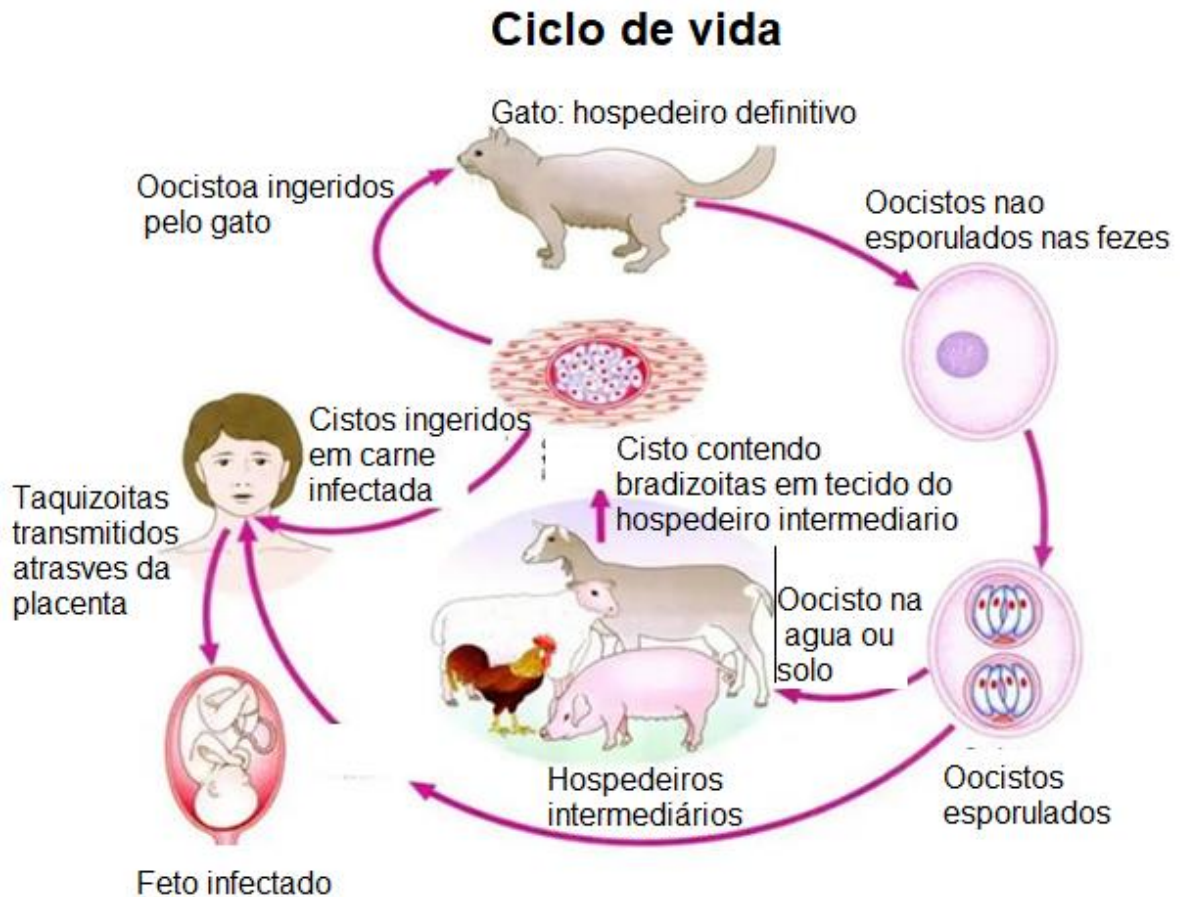
De acordo com Remington et al. (2001), os taquizoítas são a forma do parasito que apresentam menor resistência, e diferentemente dos oocistos não toleram congelamento, ambientes secos e suco gástrico.

Os taquizoítas tem papel fundamental na transmissão vertical do *T. gondii*, uma vez que possuem habilidade de migração entre vasos, órgãos e via barreiras biológicas (TENTER et al., 2000; TENTER, 2009). Em consequência ao desenvolvimento da resposta imunológica por parte do hospedeiro, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos.

**Bradizoítas** - Os bradizoítos são morfologicamente semelhantes aos taquizoítas, mas apresentam multiplicação lenta e estão localizados no interior de cistos teciduais durante a fase crônica da infecção (FAYER, 1980). São estruturas que medem em torno de 5-8,5  $\mu\text{m}$  x 1-3  $\mu\text{m}$  de tamanho e os cistos teciduais podem medir até 300  $\mu\text{m}$  de diâmetro (DUBEY, 2010).

De acordo com Amado Neto et al. (1995) os cistos teciduais apresentam dupla membrana, altamente resistente ao resfriamento (até 4° C por 30 dias) e às enzimas proteolíticas, fazendo com que essa seja a principal responsável pela transmissão através da ingestão de carne mal cozida ou cura.

Os cistos podem permanecer viáveis por longos períodos no interior do tecido dos hospedeiros além de servir como reservatórios e ser fontes de infecções locais ou sistêmicas (JACOBS, 1974; DUBEY, 2009). Em geral os cistos são encontrados o sistema nervoso central, músculos e órgãos viscerais (LAPPIN, 2010).



**Figura 1** - Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* (Câmara, 2017)

### 3.4 EPIDEMIOLOGIA

Na cadeia epidemiológica da toxoplasmose os felídeos se apresentam como únicos hospedeiros definitivos, sendo responsáveis pela eliminação do parasito nas fezes e, conseqüentemente, pela contaminação ambiental (JACOBS, 1974, NABI et al., 2018).

A confirmação da teoria de que os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos foi descrita por Tenter et al. (2000) que relatam uma evidência epidemiológica: em ilhotas e atóis que nunca foram habitados por gatos, inexistem virtualmente as infecções por esse agente.

Os hospedeiros intermediários, dentre eles aves, répteis, anfíbios, mamíferos incluindo o homem, no qual podem ou não apresentar a forma sintomática dependendo da forma e estado do hospedeiro após a ingestão de

oocistos liberados pelos felídeos (REMINGTON, 1982; TENTER et al., 2000; JEFFREY et al., 2001).

Independente da espécie, acredita-se que a fonte de infecção é comum, uma vez que oocistos que contaminam o meio ambiente e, conseqüentemente, os seres humanos e animais na mesma região geográfica (SILVA et al., 2014). É importante ressaltar que os animais da família Felidae, embora sejam os hospedeiros definitivos do parasito, também podem se comportar como hospedeiros intermediários no ciclo (DUBEY; BEATTIE, 1988).

Os felídeos podem se infectar através da ingestão dos bradizoítos de tecidos de outras espécies animais, ou até mesmo por meio da ingestão de oocistos liberados pelos felídeos (PIZZI, 1997; ARAUJO et al., 1998). Os felídeos são capazes de eliminar milhares de oocistos de *T. gondii*, os quais podem se manter viáveis por vários meses ou anos no ambiente, dependendo das condições ambientais (BUXTON, 1998). Os oocistos eliminados nas fezes e só iram iniciar a esporulação após 24 horas no ambiente e conseqüentemente se tornar infectante (DUBEY; MILLER; FRENKEL, 1970).

Em geral os filhotes de felinos se infectam com o *T. gondii* no momento que ingere caças trazidas pela mãe ou de forma congênita. Gatos adultos primoinfectados também eliminam oocistos, porém, em menor quantidade e por um curto período (LINDSAY; BLAGBURN; DUBEY, 1997). Em geral os gatos adultos dificilmente eliminam oocistos novamente a menos que ocorra um quadro de imunossupressão (DUBEY; BEATTIE, 1988; DUBEY, 2004).

Dubey e Frenkel (1974) relataram que gatos soropositivos, frente a quadros de imunossupressão podem voltar a eliminar quantidade inferior, mas ainda assim não menos importante a eliminação de oocistos. Dubey (1995) realizou experimentos, infectando felinos soropositivos após terem soroconvertido e 55% destes voltaram a eliminar oocistos.

As estimativas das doenças zoonóticas são úteis para monitorar e melhorar a saúde pública. A vigilância em laboratório fornece informações cruciais para avaliar tendências e desenvolvimentos de doenças zoonóticas (Rong et al., 2014). No Brasil, são escassos estudos sobre toxoplasmose em aves, principalmente nos diferentes tipos de ave como os perus, patos, ganso e galinha d`angola.

O conhecimento dos fatores de risco à infecção de uma determinada população é de suma importância, pois nem todas as formas de transmissão do parasito têm igual importância na epidemiologia da doença, com variações dos fatores de risco em diferentes grupos culturais (EDELHOFER; PROSSINGER, 2010; Gebremedhin e Tadesse, 2015).

### **3.5 FORMAS DE TRANSMISSÃO**

A toxoplasmose pode ser adquirida através da ingestão fecal-oral, carnivorismo ou de forma congênita (DUBEY; TOWLE, 1986). As formas mais comuns de transmissão é via ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados, bem como carnes cruas ou mal passadas contendo cistos, e leite cru contendo taquizoítas (SACKS et al., 1982; BONAMETTI et al., 1997a; BONAMETTI e al., 1997b; SILVA et al., 2003, IBRAHIM et al., 2018). De forma menos comum, a transmissão da toxoplasmose pode ocorrer durante transfusões sanguíneas, transplante de órgãos e via transplacentária (DUBEY; WENDEL, 1994; ROSE et al., 1983).

**Transmissão fecal-oral** - Após a ingestão de água ou alimentos contaminados juntamente com oocistos esporulados, os oocistos se rompem no interior do sistema digestivo do hospedeiro intermediário e os esporozoítas atravessam a mucosa intestinal, iniciando o processo de multiplicação e invasão celular, de vasos sanguíneos e linfáticos - parasitemia (DUBEY, 1998a; TENTER et al., 2000). Durante a fase aguda e patogênica as células infectadas se rompem causando reações inflamatórias, necrose e comprometimento dos órgãos afetados (distúrbios de visão, danos nervosos e cronificação) (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Após desencadeada a resposta imunológica, os taquizoítas se diferenciam em bradizoítas e formam cistos teciduais (MONTROYA; LIESENFELD, 2004), que tendem a aumentar com o tempo (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Por ser a forma menos virulenta em geral cistos se instalam sem que ocorra reação inflamatória, caracterizando a fase crônica da doença, geralmente assintomática (LUFT; REMINGTON, 1992; BLACK; BOOTHROYD, 2000).

**Transmissão por carnivorismo** - Após a ingestão de carnes, embutidos crus ou mal passados contendo nas suas fibras cistos teciduais, ou leite de hospedeiros contendo grande quantidade de taquizoítos. Inicialmente, no caso da ingestão dos cistos teciduais, ocorre digestão da parede e liberação dos bradizoítas que instantaneamente penetram no epitélio e se diferenciam em taquizoítas (DUBEY; FRENKEL, 1976). Após a resposta imunológica os taquizoítas extracelulares são destruídos e os cistos epiteliais permanecem latentes, sendo responsáveis pela manutenção de títulos sorológicos que podem durar toda vida do hospedeiro (BIANCHI, 2005 et al.; NEVES, 2005).

Caso a ingestão seja por parte de outro felídeo, o processo de diferenciação ocorre de forma diferente. Os bradizoítas, no interior das células epiteliais intestinais se diferenciam em merozoítos, e estes, por sua vez, por meio de reprodução sexuada se multiplicam e originam os oocistos. Após o rompimento das células intestinais os oocistos são liberados na luz intestinal e posteriormente no ambiente, junto com as fezes (DUBEY; MORALES; LEHMANN, 2004, DUBEY, 1991; WONG E REMINGTON, 1993).

**Transmissão congênita**- Caracterizada pela transmissão transplacentária do *T. gondii* da mãe para o feto (DESMONTS G; COUVREUR J, 1974; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Dependendo da virulência da cepa do parasita, do período gestacional e da resposta imune do feto, pode resultar graus de sequelas no desenvolvimento fetal (DESMONTS G; COUVREUR J, 1974). Em geral, essa forma de transmissão ocorre na fase aguda da doença materna, podendo ocorrer por reagudização da doença crônica (KAWAZOE, 2005). Wilder (1952) e Perkins (1973) foram os primeiros a descobrir a importância da toxoplasmose congênita como causa da toxoplasmose ocular.

### 3.6 TOXOPLASMOSE EM AVES

Há inúmeros relatos a respeito da ocorrência de toxoplasmose em mais de 300 espécies de mamíferos, bem como relatos de isolamento de *T. gondii* viável em tecido de 21 espécies de aves sem sinais clínicos, além de relatos de toxoplasmose aguda, principalmente surtos entre aves de criação livre e aves mantidas em cativeiro (DUBEY, 2002).

O primeiro relato de toxoplasmose em aves no Brasil foi feito por Nóbrega e Giovannoni em 1955, que reportaram sobre um lote de frangos (2 a 6 meses de idade), o qual apresentou 50% de mortalidade. De acordo com Dubey (2010) a prevalência da Toxoplasmose em aves varia de 2 a 100%, enquanto que Millar et al. (2012), encontraram uma prevalência de 33% para frango de corte e galinhas poedeiras.

Até o presente momento, não se tem conhecimento de nenhuma espécie de ave não suscetível a Toxoplasmose. É sabido que as aves, em especial as galinhas, têm grande importância como hospedeiros intermediários no contexto eco-epidemiológico, e pode ser utilizada como indicador de contaminação ambiental (Dubey et al (2007) uma vez que a detecção direta de oocistos em solo é tecnicamente difícil.

### **3.6.1 TOXOPLASMOSE EM GALINHAS**

As galinhas desempenham um importante papel no processo de transmissão da toxoplasmose para humanos e animais, chegando a ser consideradas por alguns autores como o hospedeiro intermediário mais importante na epidemiologia da infecção por *T.gondii* (Dubey, 2009, Cong et al., 2012).

As galinhas podem adquirir o parasito pela ingestão de oocistos ao se alimentarem em ambiente terrestre contaminado, principalmente aquelas criadas em vida livre, conhecidas como galinhas caipiras. De acordo com Meireles (2001) e Dubey et al., (2005) as galinhas se infectam principalmente pela ingestão de oocistos presentes nos alimentos e no solo, devido ao hábito de ciscar e se alimentar diretamente do solo.

O solo é indiscutivelmente uma importante fonte de transmissão de *Toxoplasma gondii*, sendo objeto de estudo a despeito da interrelação entre a contaminação do solo e as subseqüentes infecções do protozoário pelas galinhas (Liu et al., 2017).

Além disso, as galinhas apresentam maior resistência clínica e mais tempo de vida quando comparadas aos roedores, fazendo com que esses tenham maior importância epidemiológica das infecções por *T. gondii* em ambiente rural quando comparadas aos roedores. Embora a infecção seja

assintomática, esses animais são considerados eficientes hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 2002; DUBEY et al., 2003; DUBEY et al., 2005; DUBEY, 2010).

Sendo assim, as galinhas são consideradas indicadores sensíveis para contaminação ambiental com oocistos de *T. gondii* e têm sido usadas como sentinelas (Schares et al., 2018; Hamilton et al., 2019). A importância das galinhas na epidemiologia deste parasita se deve as mesmas serem um indicador útil de contaminação do solo e do ambiente com oocistos uma vez que se alimentam do solo e provavelmente ingerem oocistos derramados nas fezes de gatos infectados (Feng et al., 2016).

Galinhas, especialmente se criadas ao ar livre, são frequentemente expostas ao *Toxoplasma gondii* e podem representar um importante reservatório para da doença. Os produtos avícolas podem representar um risco para os seres humanos quando consumidos mal cozidos (SILVA et al., 2003, Ibrahim et al., 2018).

Entretanto, a transmissão através do consumo de ovos de galinha crus e ovos sem casca é extremamente improvável e não são susceptíveis de ser uma fonte de infecção para os seres humanos (DUBEY, 2013). De acordo com Millar et al., (2008), a transmissão de toxoplasmose de galinhas em escala industrial para humanos é de baixa importância, especialmente devido ao tipo de manejo que não permite o contato com felinos ou outras fontes de contaminação.

Os hábitos alimentares de galinhas oriundas de pequenas criações domésticas contribuem para que haja prevalência de cistos residuais de *T. gondii* nessas aves (DUBEY et al., 2005). Este fator representa um considerável risco de infecção para o homem, principalmente quando há o consumo de carnes cruas ou mal cozidas parasitados desta espécie aviária (SANTOS, 2012). Como geralmente existe um convívio destas aves com felídeos, no mesmo ambiente, é de grande importância o cuidado, como o manuseio destes animais e alimentos, para que não haja contaminação entre as duas espécies (PRADO, 2011).



**Figura 2** - Galinha Meia Perna (A) e Caneluda (B)  
(Arquivo Pessoal)

### 3.6.2 TOXOPLASMOSE EM GALINHAS D'ANGOLA

Assim como as galinhas domésticas, as galinhas-d'angola (*Numida meleagris*) são aves pertencentes à ordem Galliformes (FABICHAK, 1997). Elas são originárias da África, possuem ampla distribuição mundial e são criadas para produção de carnes e ovos, ornamentação e controle biológico de insetos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1991; MALLMANN ET AL. 2001; CONTINI ET AL. 2012).

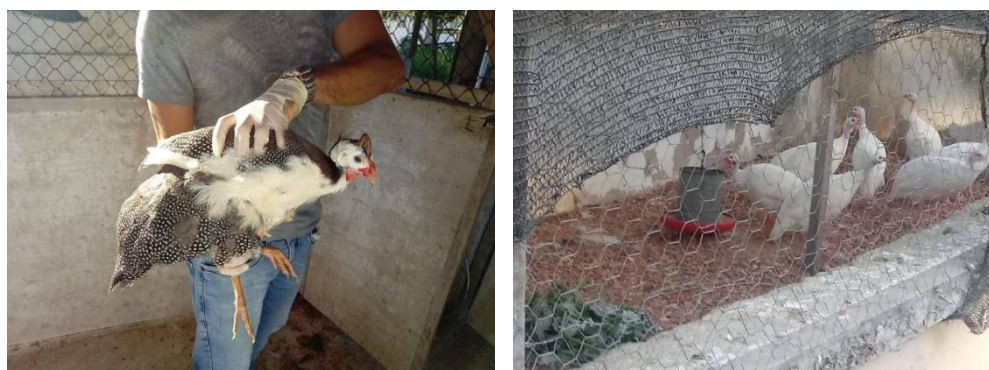
No Brasil, foram trazidas pelos colonizadores portugueses e são criadas principalmente no sistema extensivo (FABICHAK 1997). Nesse sistema, as galinhas-d'angola entram em contato com o solo, apresentando risco de infecção pela ingestão de oocistos de *T. gondii* como constatado em galinhas domésticas (Hill e Dubey 2013).

As galinhas-d'angola podem se infectar naturalmente com *T. gondii*, desenvolver a toxoplasmose e vir a óbito por lesões em diferentes órgãos parasitados por taquizoítas e cistos de bradizoítas desse protozoário (JONES et al., 2012). Portanto, o fato da sua carne ser consumida em todo o país (FABICHAK 1997; CONTINI et al. 2012), sobretudo na Região Nordeste brasileira (ARAÚJO ET AL., 2005), pode representar um risco de infecção humana pelo *T. gondii*.

Os estudos sobre a ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola no Brasil e no mundo são escassos na literatura consultada. Além disso,



pouco se conhece sobre o seu papel como sentinela da contaminação ambiental, que já é bem definido em galinhas domésticas (Dubey 2010).



**Figura 3** - Galinha d'angola cocar (A) e Galinha d'angola albina (B)  
(Arquivo Pessoal)

### 3.6.3 TOXOPLASMOSE EM PATOS E GANSOS

O pato doméstico é uma espécie relativamente sensível para a infecção por *T. gondii*, como constatado por Bártoová et al (2004) em um experimento para verificar a suscetibilidade desta ave, onde 28 patos soronegativos foram divididos em sete grupos de quatro, tendo posteriormente seis grupos inoculados por via oral com diferentes doses concentradas de oocistos de *T. gondii*, de uma cepa não virulenta, e a partir do sétimo dia todos os patos já apresentavam anticorpos para *T. gondii* detectados pelo teste de imunofluorescência indireta.

São raros os casos registrados de toxoplasmose grave em *Anseriformes*, tendo relatos de dois gansos (*Anseranas semipalmata*) criados em cativeiro em um zoológico que vieram a óbito sem sinais clínicos aparente, sendo encontrados *T. gondii* e lesões em diversos órgãos. Houve relatos também de toxoplasmose aguda em dois gansos (um macho e uma fêmea) em um zoológico em Maui, Havaí, EUA. Não há relato de toxoplasmose clínica em patos selvagens e há apenas um relatório de toxoplasmose clínica em patos domésticos relatado por Boehringer et al (1962) na argentina (DUBEY, 2002).



**Figura 4 - Patos e Gansos (Arquivo Pessoal)**

### **3.6.4 TOXOPLASMOSE EM PERU**

As aves silvestres, em especial os perus (*Meleagris gallopavo*) são importantes na epidemiologia da toxoplasmose porque podem servir como hospedeiros de reservatórios e vetores da *Toxoplasma gondii* (Lindsay et al., 1994; Bangoura et al., 2013; Zöller et al., 2013; Verma et al., 2016). De forma semelhante as galinhas, os perus selvagens se alimentam diretamente do solo, podendo ser utilizados como indicadores da contaminação ambiental por oocistos (Cerqueira-Cézar et al., 2019).

Há relatos a respeito da ocorrência de toxoplasmose em Perus desde 1909 por Nicolle e Manceaux, e em 1985 quando Howerth e Rodenroth descreveram um caso de suspeita de toxoplasmose sistêmica fatal em um peru selvagem fêmea na Georgia, EUA.

Entretanto, pouco se sabe sobre a prevalência ou importância do *Toxoplasma gondii* em Perus, uma vez que a Toxoplasmose clínica em e perus raramente são observados (Charlotte et al., 1995), e os estudos são escassos.



**Figura 5 – Perus (Arquivo Pessoal)**

### **3.7 DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE**

O diagnóstico clínico de Toxoplasmose é muito difícil, uma vez que não existem sinais clássicos da doença, e mesmo em animais altamente infectados os sinais clínicos são inespecíficos, tais como linfadenopatias, febre e mialgias, e ainda requer a utilização de técnicas laboratoriais para confirmação (COSTA et al., 2007).

O diagnóstico laboratorial de *T. gondii* pode ser realizado através de testes, imunológicos, parasitológicos ou molecular (FIALHO et al., 2009). Como também, é possível realizar o isolamento do parasito através do ensaio biológico em camundongos ou cultura celular que proporcionam seu crescimento (DEROUIN et al., 1987).

Neto (2013) avaliou a situação epidemiológica do *T. gondii* em aves domésticas e sinantrópicas da região metropolitana de Goiânia e encontrou presença de infecção em todas as aves e criações analisadas.

Embora a transmissão fecal-oral seja a via mais importantes de transmissão da infecção por *Toxoplasma gondii*, o diagnóstico por microscopia

fecal é complicado, pois outros oocistos coccidianos semelhantes estão frequentemente presentes na mesma amostra fecal (Chemoh et al., 2016).

### 3.7.1. Diagnóstico sorológico de *Toxoplasma gondii*

A detecção de anticorpos de *T. gondii* é considerada a forma mais eficaz no diagnóstico de toxoplasmose (da SILVA et al., 2002). Os exames sorológicos objetivam a identificação de anticorpos específicos anti-*T.gondii* e avaliam a infecção. Os mais utilizados são teste de aglutinação modificado (MAT), hemoaglutinação indireta (HAI), imunofluorescência indireta (IFI), aglutinação direta (MAD), teste de aglutinação de látex (LAT), ensaio imunoenzimático (ELISA) e teste de corante Sabin-Feldman (Dye 26 Test) (DUBEY, 2010).

A necessidade de testes simples para diagnóstico sorológico fez com que os testes de aglutinação se estabelecessem e tem auxiliado consideravelmente na detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em animais e também humanos.

Alguns laboratórios brasileiros têm produzido o antígeno, porém seu acesso ainda é limitado. Sua eficiência na detecção de infecção aguda é baixa pela utilização do 2-mercaptoetanol, que removem substâncias não-específicas IgG ou IgM, e pode dar resultados falso positivos durante estágios iniciais de infecção (DUBEY, 2010; BELTRAME et al., 2012).

Essa técnica não exige equipamentos especiais, podendo ser utilizada para testar plasma sanguíneo ou até mesmo sangue total - embora a preferência ainda seja o soro. Soros hemolisados não causam interferência no teste (DUBEY, 2010; DUBEY et al., 2016).

A HAI também é um teste de aglutinação e sua execução é mais simples, com velocidade de resultados mais rápida que o MAT. A detecção de anticorpos é considerada tardia e as infecções agudas podem ser perdidas por este teste. A HAI é frequentemente negativo em infecções congênitas (DUBEY, 2010).

Beltrame e colaboradores (2012) verificaram que a HAI apresentou 83% de especificidade e 78% de sensibilidade quando comparado com o MAT, na detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas, indicando que este poderia ser largamente utilizado na ausência do MAT, já que o kit está disponível

comercialmente e a concordância foi de 81,6%, com índice kappa de 0,61 (acordo bom) entre os dois métodos.

As determinações sorológicas são mais convenientes e certeiras para o diagnóstico da toxoplasmose, e deve ser estabelecido: a) a soroconversão de negativo a positivo, b) um aumento no título de anticorpos e c) a presença de IgM específica que indicaria infecção ativa.

Os fundamentos do método Toxotest HAI baseia-se na propriedade que têm os anticorpos anti-*T.gondii* de produzir aglutinação na presença de glóbulos vermelhos sensibilizados com antígenos citoplasmáticos e de membrana do parasito. O emprego de ambos tipos de antígenos incrementa a sensibilidade do método e permite a detecção precoce da infecção. Tanto a presença de anticorpos heterofilos como a aparição de IgM, características do período agudo da parasitose são investigados empregando-se tratamento com 2-mercaptoetanol (2-ME) e eritrócitos não sensibilizados para controle e absorção de heterofilia (Rong et al., 2014)

Devido aos felinos usualmente não desenvolverem anticorpos durante o período de eliminação dos oocistos, o exame sorológico não nos concede uma informação útil sobre a transmissibilidade da toxoplasmose nesta espécie. Um gato sorologicamente positivo (imune) apenas indica que ele provavelmente eliminou oocistos e, então, oferece menos perigo na transmissão do que um gato negativo, embora, gatos imunes possam vir, mesmo que raramente, a eliminar oocistos numa nova infecção, sendo apropriado precauções ao lidar com fezes de felinos (Chemoh et al., 2018)

### **3.7.2. Diagnóstico molecular de *Toxoplasma gondii***

O diagnóstico molecular tem sido amplamente realizado. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) amplifica o material genético do agente a ser pesquisado utilizando iniciadores (primers) específicos, facilitando a sua visualização. Contudo, essa técnica possui um custo elevado, o que restringe a sua utilização em diagnósticos de rotina (SINGH, 1997; ABU-DALBOUH et al., 2012).

Com o surgimento da técnica de PCR-RFLP (Polimorfismo do Comprimento de Fragmentos de Restrição) foi possível amplificar loci gênicos específicos a partir de um número pequeno de células (SIBLEY et al., 1992), dando início aos estudos de caracterização genética de *T. gondii*. A partir daí foi possível classificar o parasito, inicialmente, em três tipos genéticos (I, II, III) e relacioná-los à virulência em camundongos, propondo que os isolados do Tipo I causam mortalidade em 100% dos animais inoculados, independente da dose, enquanto que os isolados dos Tipos II e III foram considerados pouco ou não virulentos para camundongos inoculados (HOWE; SIBLEY, 1995; HOWE et al., 1996).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo comitê de Ética em uso de animais da Universidade Estadual do Sul da Bahia (número de registro 109/2015)

Esse estudo foi realizado no Setor de Avicultura situado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) campus de Itapetinga. Foram coletadas 160 amostras de sangue de aves de diferentes espécies sendo 20 amostras de cada grupo: ecótipos de galinha caipira como Caneluda (*Gallus gallus domesticus*), Peloco e Meia Perna; Peru (*Meleagris gallopavo*), Galinha d'angola (*Numida meleagris*), Galinha d'angola "Pampa" (Albino x cocar gigante) Pato (*Cairina moschata*) e Ganso (*Anser anser*), no período de 27 de maio a 07 de junho de 2019.

As aves são todas adultas, são criadas em piquete de 5x16 metros, esse piquete são todos telados e ocorre rotação dessas aves entre os piquetes na mudança do pasto e durante a limpeza do galpão que ocorrem duas vezes por ano com o uso de desinfetante a base de Cloreto de Alquil Dimetil. Essas aves se alimentam com ração e pasto (capim Tifton 75) e bebem água tratada a vontade. Nesses piquetes há acesso dos gatos livremente.

Os sangues foram coletados da veia da asa ou veia ulnar e colocado em tubos estéreis; após esta coleta os tubos eram colocados na centrífuga por 15 minutos a 25 rpm para dessorar. Após o dessoramento, o soro foi transferido para eppendorfs identificados e levados para o laboratório de Genética da Universidade Estadual de Santa Cruz e congelados a - 20°C.

A análise estatística foi realizada apenas a análise descritiva dos resultados.

### 4.1 Análise sorológica das amostras

A análise sorológica das amostras das aves para verificação da presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi realizada através do método de hemoaglutinação indireta (HAI) com o uso do kit Toxotest Thai do Laboratório Wiener Lab. (Rosário-Argentina). O teste foi realizado de acordo com as normas do fabricante, nas dependências do Hospital Veterinário da UESC - BA.

## **4.2 Obtenção das amostras de fezes de gatos**

A obtenção das amostras de fezes foi feita através do recolhimento de fezes de gatos que estavam habitando as instalações do setor de avicultura e arredores da UESB. Essa coleta foi feita através de um *pool* de 15 animais, subdivididos em eppendorfs estéreis contendo 05 amostras de fezes de cada animal. Totalizando 03 tubos ao total.

## **4.3 Análise molecular das amostras**

A análise molecular das amostras de fezes dos gatos para verificação de presença de oocistos de *Toxoplasma gondii* foi realizada através do método de Extração de DNA com o uso do DNAzol. O teste foi realizado de acordo com as normas do fabricante.

A reação de PCR foi realizada nas dependências do laboratório de genética na UESC, e foram usando os primers Tox 4 e Tox 5 e ambos deram negativo para presença de oocistos nas fezes.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas 160 amostras de sangue de aves das espécies: ecótipos de galinha caipira Caneluda (*Gallus gallus domesticus*), Peloco, e Meia Perna Peru (*Meleagris gallopavo*), Galinha d'angola (*Numida meleagris*), Galinha d'angola "Pampa" (Albino + cocar gigante), Pato (*Cairina moschata*) e Ganso (*Anser anser*), das quais 49 amostras (30,6 %) apresentaram presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.

Foram analisadas 60 amostras de soro de sangue de ecótipos de galinhas caipira das espécies: Caneluda, Peloco e Meia Perna, das quais amostras 37 (75,5 %) apresentaram presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Sendo que das 20 amostras de sangue de galinha Caneluda 100 % das amostras foram positivas para presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Nas galinhas Peloco, 10 (50%) das 20 amostras analisadas apresentaram presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Enquanto que das 20 amostras das galinhas meia perna apenas 13 amostras (60%) não apresentaram anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.

A ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas (75,5%) encontrado no presente estudo é significativamente superior às encontradas por Perdoncini et al., 2010 (17,1%), Garcia et al., 2000 (37,5%), Alves, 2007 (50%), sendo mais próxima dos resultados encontrados por Silveira em 2009 (67,5%).

Rong et al. (2014), por sua vez, após analisar 304 amostras no Egito, relataram uma prevalência média de 8,5% de *T. gondii* em sangue e cérebro de galinhas (ELISA, histopatologia e IHC). De forma semelhante Cong et al. (2012) examinaram mais de 800 amostras e encontraram uma soroprevalência de anticorpos contra *T. gondii* (MAT) de 7,26% em galinhas na China.

Em estudo feitos por Hamilton et al., (2019) galinhas de Antígua e Barbuda, Dominica e Trinidad foram detectados 20,5, 38,2 e 17,1%, respectivamente, de prevalência para Anticorpos contra *T. gondii*.

Yang et al. (2012) estudaram a soroprevalência de *T. gondii* em 502 galinhas adultas (MAT) obtiveram 11% para galinhas criadas ao ar livre e 5% para galinhas em cativeiro. Liu et al. (2017) também verificaram que os resultados indicam a influência das formas de criação na prevalência, entretanto,

esses autores relatam uma prevalência de 67,14% em animais de vida livre e 41% e granja.

Dubey et al., 2005 estudando a prevalência de *T. gondii* em galinhas caipiras na Áustria e encontraram que 36,3% das galinhas apresentaram anticorpos contra *T. gondii* (MAT). Enquanto que Dubey et al (2007) relatou uma ocorrência de 46,4% em um estudo com 84 galinhas caipiras criadas livres nos estados do Pará e Rio Grande do Sul. De acordo com esses autores a soropositividade para toxoplasmose está diretamente ligada ao tipo de manejo, sendo que galinhas criadas em criação livre ou extensiva são mais susceptíveis.

A teoria de Dubey et al (2007) foi corroborada por Barbosa (2007) e Santos (2012), que após analisar 300 e 200 amostras soro proveniente de frangos de corte destinados ao abate, respectivamente, obtiveram 100% das amostras negativas para presença de anticorpos anti-*T. gondii*.

De forma semelhante, Millar et al. (2012) comprovou que o sistema de produção está diretamente envolvido na infecção pelo *T. gondii* quando comparada a ocorrência do parasita em frangos de corte (12%) com galinhas poedeiras (33%).

Além disso, de acordo com Neto (2013) a localização geográfica pode influenciar na soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em animais em sistema de criação extensiva, fazendo com que essas aves possam ser consideradas sentinelas de contaminação ambiental, sinalizando o risco para saúde pública.

Foram analisadas 40 amostras de sangue de galinhas d'Angola da espécie: Cocar e Pampa, das quais amostras apenas uma amostra (2,5%) apresentou presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Sendo que as 20 amostras galinhas d'Angola Cocar (100%) não apresentaram anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, enquanto que 19 amostras da galinha d'Angola Pampa (95%) foram também negativas para presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.

A ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas d'Angola (2,5%) encontrado no presente estudo é significativamente inferior à encontrada por Dubey et al., 2011 (20%) e refutam a teoria de Sedlák et al. (2000), de que as galinhas-d'angola seriam consideradas mais suscetíveis à toxoplasmose do que as galinhas domésticas.

Vielmo et al. (2019) descreveram os aspectos clínicos, epidemiológicos, patológicos e moleculares de um surto de toxoplasmose em galinhas domésticas e d'angola no sul do Brasil, e concluíram que há considerável diversidade genotípica de *T. gondii* no Brasil.

Das 20 amostras de sangue de Peru, das quais 10 amostras (50%) foram positivas para presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Os resultados encontrados neste estudo corroboram com um inquérito sorológico realizado por El-Massry et al (2000), os quais analisando 173 amostras de sangue de perus em Gizé, no Egito, encontraram uma soroprevalência de 59,5%; e por Bangoura et al., (2013) que após infecção experimental oral por oocistos em 36 perus, obtiveram 47% de amostras de cérebro positivas para *T. gondii*.

Entretanto, diferem significativamente dos achados de Zöller et al., (2013), que após infectar experimentalmente via intravenosa um total de 38 perus com diferentes doses de taquizoítas de *T. gondii*, obtiveram uma prevalência de 15%.

Também foram analisadas 40 amostras de soro de patos e gansos, das quais todas as amostras não apresentaram presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.

De acordo com Bártoová et al (2004), os patos apresentam a mesma susceptibilidade para a infecção pelo *T. gondii* que os galináceos. A ausência de soroprevalência positiva encontrada neste estudo difere dos achados de Ferraroni et al (1980) que analisando 15 amostras de soro de patos (*Cairina moschata*) na Amazônia encontraram 26,6% de positividade.

Por outro lado, El-Massry et al (2000) analisando 48 amostras de soro de patos no Egito, encontraram 50% de amostras positivas; Dubey et al (2003), também no Egito, Puvanesharan et al (2013) na Malásia e Yan et al (2009) na China de 15%; Cong et al (2012) na China 12% e Maksimova et al (2011) na Alemanha 5,7% de amostras positivas em patos, reforçando a teoria de que a localização geográfica pode influenciar na soroprevalência do *T. gondii* (Neto, 2013).

Yang et al. (2012) estudando a soroprevalência de *T. gondii* em 268 patos e 128 gansos criados ao ar livre ou em cativeiro, pelo teste de aglutinação modificada (MAT) encontraram maior prevalência em grupos ao ar livre do que nos grupos engaiolados.

Sandström et al. (2013) identificaram locais onde as populações de ganso podiam ser infectadas com *T. gondii* e investigaram a dinâmica de anticorpos específicos para *T. gondii*, em áreas de criação do Ártico na Rússia e em Svalbard, e áreas temperadas de inverno na Holanda e na Dinamarca. Os adultos foram considerados soropositivos em todos os locais com baixa soroprevalência em aves de criação em áreas temperadas.

Puvanesuaran et al. (2013) isolaram e genotiparam *T. gondii* de patos caipiras na Malásia. Todas as amostras positivas foram inoculadas em camundongos, e *T. gondii* foi isolado com sucesso de quatro amostras individuais de pato (1,95%), que foram inicialmente consideradas altamente soropositivas.

Elmore et al. (2014) estimaram a soroprevalência de *T. gondii* nos gansos do ecossistema do Canadá, pelo teste indireto de anticorpos fluorescentes (IFAT) e pelo teste de aglutinação direta (DAT). Esses autores concluíram que os gansos são rotineiramente expostos a *T. gondii* em algum momento de suas vidas sendo potenciais hospedeiros intermediários do parasita.

Work et al. (2016) estudaram a exposição generalizada de gansos e gato selvagem ao parasita *T. gondii* no Havá. Dos 94 gansos amostrados, a prevalência na ilha de Kauai, Maui e Molokai foi de 21% (n = 42), 23% (n = 31) e 48% (n = 21), respectivamente.

Konell et al. (2019) realizando um levantamento sorológico de *T. gondii* em 149 gansos de parques públicos e em cativeiro e comparando a soroprevalência entre esses dois locais, detectaram que 57% dos gansos de parques urbanos e 26,53% dos gansos de cativeiro eram soropositivos para pelo menos um protozoário. Sendo este, o primeiro levantamento sorológico de *T. gondii* em gansos de parques urbanos em Curitiba, Brasil.

**TABELA 1** – Análise sorológica de *Toxoplasma gondii* em soro de sangue de aves.

Amostra/ Espécie	Galinhas			Galinha d'Angola		Peru	Pato	Ganso
	Caneluda	Peluco	Meia- Perna	Cocar	Pampa			
1	+	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	-	-	-	+	-	-
3	+	-	-	-	-	-	-	-
4	+	-	+	-	-	-	-	-
5	+	-	+	-	-	+	-	-
6	+	+	+	-	+	+	-	-
7	+	+	-	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	-	+	-	-
9	+	-	-	-	-	+	-	-
10	+	+	-	-	-	+	-	-
11	+	-	+	-	-	+	-	-
12	+	+	+	-	-	-	-	-
13	+	+	+	-	-	-	-	-
14	+	+	+	-	-	-	-	-
15	+	+	+	-	-	-	-	-
16	+	-	-	-	-	+	-	-
17	+	+	-	-	-	-	-	-
18	+	-	-	-	-	+	-	-
19	+	-	-	-	-	+	-	-
20	+	-	-	-	-	-	-	-

No presente estudo também foram coletadas 15 amostras de fezes para a realização do PCR convencional para verificação da ocorrência de *Toxoplasma gondii* em gatos oriundos da mesma instituição que tem convívio com as aves estudadas no experimento anterior, das quais, nenhuma amostra apresentou presença de oocistos de *Toxoplasma gondii*, conforme demonstrado na figura abaixo:

A inexistência de oocistos de *T. gondii* nas fezes dos gatos encontrado no presente estudo é provavelmente consequência dos animais analisados se encontrarem na fase crônica da doença. Já que os oocistos não esporulados são liberados nas fezes de felídeos apenas na fase aguda, ocorrendo a esporulação 1 a 5 dias após no ambiente (DUBEY; LINDSAY, 2006).

De forma semelhante Chemoh et al. (2016) estudando a presença de oocistos de *Toxoplasma* usando análise de PCR em amostras de fezes felinas do sul da Tailândia, identificaram apenas 2 animais positivos dentre 254 analisados (0,8%).

Nabi et al. (2018), por sua vez, utilizando a PCR para detectar oocistos de *T. gondii* em 470 amostras de gatos, obtiveram uma prevalência de 2,3% (11/470) e concluíram que a PCR é o método mais confiável para a detecção de oocistos fecais de *T. gondii* em gatos.

Por outro lado, este estudo difere dos estudos feitos por Cerro et al. (2014), Hanafiah et al. (2014), Veronesi et al. (2017) e que encontraram 11%, 33,3% e 42,3% de gatos contaminados, respectivamente, também utilizando a PCR.

O estudo também difere de Dubey et al. (2005) que avaliaram as fezes de 15 gatos quanto a presença de oocisto, verificaram que 11 gatos eliminam oocistos de *T. gondii*.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Verificou-se a ocorrência no Sudoeste da Bahia. O presente estudo determinou a ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* nas aves Caneluda (*Gallus gallus domesticus*), Peloco (*Gallus gallus domesticus*), Meia Perna (*Gallus gallus domesticus*), Galinha d'angola "Pampa" (Albino + cocar gigante) (*Numida meleagris*) e Peru (*Meleagris gallopavo*).

Por outro lado, não foram encontrados anticorpos anti - *T. gondii* em Galinha d'angola Cocar (*Numida meleagris*), Pato (*Cairina moschata*) e Ganso (*Anser anser*). Não foi possível verificar a correlação da doença nas aves com a presença de gatos no local. Como também, não foi verificado a presença de oocistos nas fezes dos gatos presentes no solo, provavelmente por os animais não estarem na fase aguda de infecção.

Deste modo, é possível sugerir que a ocorrência de *Toxoplasma gondii* é favorecida pelo hábito de alimentar das galinhas e perus.

## 7. REFERENCIAS

AMATO NETO et al., **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais** 1995

BANGOURA et al. Experimental *Toxoplasma gondii* oocyst infections in turkeys (*Meleagris gallopavo*). **Veterinaria Parasitol.** 2013.

BARROS et al. **A importância da galinha capoeira na agricultura familiar.** 2020. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0704-1.pdf>. Acesso em 07/01/2020

BUTTY, E... Diagnostic study of *Toxoplasma gondii* in turkey (*Meleagris gallopavo*) in some regions in Ninevah governorate, Iraq. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences** 23. 2009.

CÂMARA, BRUNNO. "***Toxoplasma gondii***" e **Toxoplasmose.** 2017. Disponível em: [biomedicinapadrazo.com.br/2017/04/toxoplasma-gondii-e-toxoplasmose.html](http://biomedicinapadrazo.com.br/2017/04/toxoplasma-gondii-e-toxoplasmose.html). Acesso em 15/01/2019.

CASARTELLI-ALVES, L.C. et al. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas criadas extensivamente em Rio Bonito, Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, p.1398-1401, 2012.

CERRO et al. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em gatos (*Felis catus*, Linnaeus 1758) residentes em Lima, Peru. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria.** vol.23. 2014

CERQUEIRA-CÉZAR et al. Isolation and Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii* from Tissues of Wild Turkeys (*Meleagris gallopavo*) in Pennsylvania. **American Society of Parasitologists.** 391-394. 2019.

CHARLOTTE et al. Toxoplasmosis in Wild Turkeys: A Case Report and Serologic Survey. **Journal of Wildlife Diseases.** 1995

CHEMOH et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* Isolated from cat Feces in Songkhla, Southern Thailand. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports.** 2018.

CHEMOH et al. Molecular investigation on the occurrence of *Toxoplasma gondii* oocysts in cat feces using TOX-element and ITS-1 region targets. **PubMed.** 2016.

CLARE et al. A F-actina de *Toxoplasma gondii* forma uma extensa rede filamentosa necessária para a troca de materiais e a maturação do parasita. **Controladoria de controle de doenças SES/SP** 2017. Disponível em <https://elifesciences.org/articles/24119>. Acesso: 05/02/202.

CONG et al. First report of *Toxoplasma gondii* infection in market-sold adult chickens, ducks and pigeons in northwest China. **Parasitas e vetores.** 2012.



Da SILVA, A.V. et al. Comparação da Reação de Imunofluorescência Indireta e o Método de Aglutinação Direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.69, p.7-11, 2002.

DUARTEM P. O.; OSHIRO, L. M.; DITTRICH, R. L.; ANDREOTTI, R. Toxoplasmose na cadeia produtiva da carne. **EMBRAPA**. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-geral/-/busca/toxoplasmose?buscaPortal=toxoplasmose> Acesso em 03/02/2020

De OLIVEIRA, L.N. et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the northeast region of Brazil. **Journal of Parasitology**, v.95, p.235-237, 2009

DUBEY, J. P. Infecções por *Toxoplasma gondii* em Galinhas (*Gallus domesticus*): Prevalência, Doença Clínica, Diagnóstico e Importância da Saúde Pública. **Zoonoses Public Health**. 2010. Acesso em 05/01/2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x>

DUBEY, J. P. et al. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from guinea fowl (*Numida meleagris*) and domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from Brazil. **Journal of Parasitology**, v.97, p.842–845, 2011.

DUBEY, J. P. et al. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria. **Lehmannc** Volume 133, Issue 4, 2005, Pages 299-306.

ELMORE et al. *Toxoplasma gondii* exposure in arctic-nesting geese: A multistate occupancy framework and comparison of serological assays. **Trends in Parasitology**. Volume 22, Issue 6, páginas 247-252. 2006

FENG et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Free-Range Chickens in Henan Province of China. **BioMed research international**, 2016.

FERGUSON, D.J.P. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, p.133-148, 2009.

FERNANDES, Marcela Fernanda Torres Samico et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and parasite DNA in backyard chicken breeding in Northeast, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia. Veterinária**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 105-108, 2016. Acesso em 05/02/2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612016012>

FRANCO, A. S. M. A Avicultura No Brasil. **Análise Conjuntural**, v.39, n.1-2/jan./fev. 2017.

GEBREMEDHIN, E. Z., & TADESSE, G. A meta-analysis of the prevalence of *Toxoplasma gondii* in animals and humans in Ethiopia. **Parasites & vectors**, 8, 291. 2015

HAMILTON, C. M., R. et al. Prevalence and Genetic Diversity of *Toxoplasma gondii* in Free-Ranging Chickens from the Caribbean. **Acta Parasitológica**. 2019; 64(4): 738–744

HAMILTON, C. M., R. et al. Predominance of atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* in free-roaming chickens in St. Kitts, West Indies. **Parasitas e Vectores**. 2017

HANAFIAH et al. Detection of *Toxoplasma gondii* copro-prevalence by polymerase chain reaction using repetitive 529 bp gene in feces of pet cats (*Felis catus*) in Yogyakarta, Indonesia. **Veterinary World**. 2018.

IBRAHIM et al. *Toxoplasma gondii*: Prevalence of natural infection in pigeons and ducks from middle and upper Egypt using serological, histopathological, and immunohistochemical diagnostic methods. **Veterinary Parasitology Reg Stud Reports**. 2018

JACOBS. *Toxoplasma gondii*: parasitologia e transmissão. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**. 1974

KAWAZOE. *Toxoplasma gondii* In: NEVES, DP **Parasitologia Humana**. 2002

KONELL et al. Serosurvey of *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* sp. and *Neospora caninum* in geese (*Anser* sp.) from urban parks and captivity. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**. 2019

LINDSAY et al. Prevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from wild turkeys in Alabama. **Journal of the Helminthological Society of Washington** 1994.

LIU et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in chicken and soil of chicken farms in Nanjing region, China. **Infectious diseases of poverty**. 2017.

LUO et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Wild Boars, Wild Rabbits, and Wild Chickens in Hubei Province, China. **The Korean journal of parasitology**, 2017.

MAROBIN, L; FLÔRES, M. L.; RIZZATTI, B. B.; SEGABINAZI, S. D.; LAGAGGIO, V. R. A.; GRIGULO, M.; SCALCO, M. Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em emas (*Rhea americana*) em diferentes criatórios do Estado do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** . 2004.

MAKSIMOV et al. Serological survey and risk factors for *Toxoplasma gondii* in domestic ducks and geese in Lower Saxony, Germany. **Veterinary Parasitology**. 2011

MONTOYA. Diagnóstico Laboratorial de Infecção por *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose. **The Journal of Infectious Diseases** volume 185, 2002

NABI et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* oocysts through Copro-PCR in cats at Pet Center (UVAS), Lahore, Pakistan. **Journal Of Pakistan Medical Association: JPMA** 2018

PERDONCINI, G. et al. Prevalência de *Toxoplasma gondii* em aves e suínos: um problema para a saúde pública. **Unoesc & Ciência**, v.1, p.57-64, 2010.

PUVANESUARAN et al. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-range ducks in Malaysia. **Avian Diseases**. 2013

REMINGTON et al. Tratamento da infecção por *Toxoplasma gondii* durante a gravidez. **Clinical Infectious Diseases** Volume 47, Edição 4. 2008

RONG et al. Seroprevalence, risk factors and genotyping of *Toxoplasma gondii* in domestic geese (*Anser domestica*) in tropical China. **Parasites & vectors**, 7, 459. 2014.

SANDSTRÖM et al. Latitudinal variability in the seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in non-migrant and Arctic migratory geese. **Veterinary Parasitology**. 2013

SEDLAK K e FRANTI IL. High susceptibility of partridges (*Perdix perdix*) to toxoplasmosis compared with other gallinaceous birds. **Avian Pathology**. 2000.

SCHARES, G.; M et al. *Toxoplasma gondii* infections in chickens - performance of various antibody detection techniques in serum and meat juice relative to bioassay and DNA detection methods. **International Journal for Parasitology** 2018

SILVA, Letícia A.; ANDRADE, Renata O.; CARNEIRO, Ana Carolina A. V.; VITOR, Ricardo W. A. Overlapping *Toxoplasma gondii* Genotypes Circulating in Domestic Animals and Humans in Southeastern Brazil. **PLoS One**. 2014

SHIRAISHII, C. S.; AZEVEDO, J. F.; SILVA, A. V.; SANT'ANA, D. M. G.; ARAÚJO, E. J. A. Análise morfométrica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.2146-2153, out, 2009

SROKA et al. Optimization of flotation, DNA extraction and PCR methods for detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in cat faeces. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine** 2018.

SCHLÜTER, et al. Alterações neuronais induzidas por *Toxoplasma gondii*. **Parasite Immunology**. 2014.

TENTER et al. *Toxoplasma gondii*: dos animais aos seres humanos. **International Journal for Parasitology** Volume 30, Issues 12–13, Novembro de 2000

USDA. Departamento de agricultura dos EUA. Disponível em: <https://www.usda.gov/>. Acesso em: 05/02/2020.

VERMA et al. Toxoplasmosis in geese and detection of two new atypical *Toxoplasma gondii* strains from naturally infected Canada geese (*Branta canadensis*). **Parasitology Residence**. 2016

VERONESI et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in faeces of privately owned cats using two PCR assays targeting the B1 gene and the 529-bp repetitive element. **Parasitology Residence**. 2017

VIELMO et al. Outbreak of toxoplasmosis in a flock of domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) and guinea fowl (*Numida meleagris*). **Parasitology Residence**. 2019

VITALIANO, S.N. et al. Epidemiological aspects of *Toxoplasma gondii* infection in riverside communities in the Southern Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.48, p.301-306, 2015.

ZÖLLER et al. Tissue tropism of *Toxoplasma gondii* in turkeys (*Meleagris gallopavo*) after parenteral infection. **Parasitology Residence**. 2013

ZULPO et al. *Toxoplasma gondii*: A study of oocyst re-shedding in domestic cats. **Veterinary Parasitology**. 2018

YANG, N., Mu, M., Li, H. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in slaughtered chickens, ducks, and geese in Shenyang, northeastern China. **Parasites Vectors** 5, 237. 2012.

WONG et al. Pathogenicity of Five Strains of *Toxoplasma gondii* from Different Animals to Chickens. **The Korean journal of parasitology**, 155–162. 2015.

WORK et al. *Toxoplasma gondii* antibody prevalence and two new genotypes of the parasite in endangered hawaiian geese (*nene: branta sandvicensis*). **Wildlife Disease Association** 2016

## APÊNDICES

**TABELA 1** - Descrição da análise sorológica do sangue de aves:

1. Levar a amostra e os componentes do teste para a temperatura ambiente, se refrigerados ou congelados.
2. Colocar o cassete em uma superfície limpa e plana.
3. Coletar 10 uL de amostra utilizando a pipeta capilar até a marcação da linha preta. Segurando a pipeta capilar verticalmente, dispense toda amostra coletada no poço da amostra, certificando-se de que não haja bolhas de ar. Imediatamente adicione 2 gotas (cerca de 60-80 µL) de tampão diluente com o frasco posicionado verticalmente.
4. Cronometrar o tempo.
5. Ler o resultado do teste em 10 minutos. Resultados positivos podem ser visíveis em até 1 minuto.

**TABELA 2** - Descrição da análise molecular das fezes dos gatos:

1. Pesar uma quantidade de fezes = 200 µl (imagem 1):
2. Realizar a limpeza das fezes com PBS (que é uma solução tampão):
3. Realizar a extração do Dna utilizando DNAzol:
  - a. aliquotar 7 µl de fezes. em caso de sangue de mamíferos recomenda-se utilizar a cepa leucocitária ou fazer uma pré-lavagem com água destilada e centrifugar a amostra;
  - b. adicionar 100 µl de DNazol, homogeneizar e aguardar de 3 a 5 minutos (Imagem 3);
  - c. adicionar 500 µl de álcool gelado 100% e homogeneizar levemente;
  - d. pescar o pellet e transferir para o centro do tubo;
  - e. lavar o pellet com 1 ml de etanol 85% e centrifugar a 14.000 rpm por 10 minutos. se necessário repetir a lavagem (imagem 4);
  - f. deixar o pellet secar por 10 minutos e eluir em 35 µl de eluidor.
4. Realização de PCR convencional para verificação da presença de oocistos nas fezes dos gatos.