

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DE PATÓGENOS  
BACTERIANOS E PARASITÁRIOS EM FELINOS (*Felis silvestris  
catus*) DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS**

Taiã Mairon Peixoto Ribeiro  
Orientadora: Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme

GOIÂNIA  
2020

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR  
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES  
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das dissertações e teses disponibilizados são de responsabilidade exclusiva dos autores. Ao encaminhar(em) o produto final, o autor e o orientador firmam o compromisso de que ele não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

**1. Identificação do material bibliográfico:**     Dissertação     Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação:**

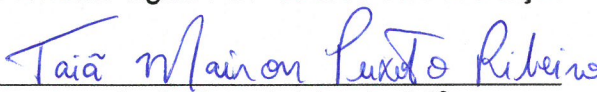
Nome completo do autor: Taiã Mairon Peixoto Ribeiro

Título do trabalho: Diagnóstico Sorológico e Molecular de Patógenos Bacterianos e Parasitários em Felinos (*Felis silvestris catus*) do município de Araguaína, Tocantins

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

Independente da concordância com a disponibilização eletrônica, é imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

  
Assinatura do(a) autor(a)<sup>2</sup>

Ciente e de acordo:

  
Assinatura do(a) orientador(a)<sup>2</sup>

Departamento de Medicina Veterinária / EVZ / UFG

Data: 02 / 03 / 2020

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

<sup>2</sup> As assinaturas devem ser originais sendo assinadas no próprio documento, imagens coladas não serão aceitas.

TAIÃ MAIRON PEIXOTO RIBEIRO

**DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DE PATÓGENOS  
BACTERIANOS E PARASITÁRIOS EM FELINOS (*Felis silvestris catus*)  
DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS**

Tese apresentada para obtenção do grau de Doutor  
em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e  
Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

**Área de Concentração:**

Saúde Animal, Tecnologia e Segurança dos  
Alimentos

**Linha de Pesquisa:**

Epidemiologia, Controle e Diagnóstico de Doenças  
Infecciosas

**Orientadora:**

Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme - EVZ/UFG

**Comitê de Orientação:**

Profa. Dra. Helcileia Dias Santos - EMVZ/UFT

Prof. Dr. Marcos R. André -UNESP/Jaboticabal

GOIÂNIA

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Ribeiro, Taiã Mairon Peixoto

Diagnóstico Sorológico e Molecular de Patógenos Bacterianos e Parasitários em Felinos (*Felis silvestris catus*) do município de Araguaína, Tocantins [manuscrito] / Taiã Mairon Peixoto Ribeiro. - 2020.

XVIII, 127 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme; co-orientadora Dra. Helcileia Dias Santos; co-orientador Dr. Marcos Rogério André.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2020.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Brucelose , . 2. Cytauxzoonose. 3. Epidemiologia. 4. Leptospirose. 5. Toxoplasmose. I. de Sá Jayme, Valéria, orient. II. Título.

CDU 639.09



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ATA DE DEFESA DE TESE**

Ata Nº 284 da sessão de Defesa de Tese de **Taiã Mairon Peixoto Ribeiro** que confere o título de Doutor(a) em **Ciência Animal**, na área de concentração em **Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de alimentos**.

Aos **vinte e sete dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte** a partir da(s) **08h30min**, no(a) sala 03 (auditório) do setor de Pós-Graduação da EVZ/UFMG, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada **“Diagnóstico Sorológico e Molecular de Patógenos Bacterianos e Parasitários em felinos (*Felis silvestris catus*) do município de Araguaína, Tocantins”**. Os trabalhos foram instalados pelo(a) Orientador(a), **Prof.ª Dr.ª Valéria de Sá Jayme (EVZ/UFMG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Prof.ª Dr.ª Iolanda Aparecida Nunes (EVZ/UFMG)**, membro titular externo ao programa; **Prof.ª Dr.ª Thais Miranda Silva Freitas (UniMB)**, membro titular externo; **Prof.ª Dr.ª Maria Auxiliadora Andrade (EVZ/UFMG)**, membro titular interno; **Prof. Dr. Weslen Fabrício Pires Teixeira (EVZ/UFMG)**, membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do **trabalho**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo(a) **Prof.ª Dr.ª Valéria de Sá Jayme**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos vinte e sete dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Valéria De Sá Jayme, Professora do Magistério Superior**, em 27/02/2020, às 12:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Weslen Fabrício Pires Teixeira, Professor do Magistério Superior-Visitante**, em 27/02/2020, às 12:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **THAIS MIRANDA SILVA FREITAS, Usuário Externo**, em 27/02/2020, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Auxiliadora Andrade, Professora do Magistério Superior**, em 27/02/2020, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Iolanda Aparecida Nunes, Professor do Magistério Superior**, em 27/02/2020, às 12:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

27/02/2020

SEI/UFG - 1177963 - Ata de Defesa de Tese



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1177963** e o código CRC **869CE69F**.

---

**Referência:** Processo nº 23070.003072/2020-32

SEI nº 1177963

*Dedico ao Deus criador de todo universo, perfeito do jeito que é*

*À minha mãe e meu pai*

*À minha esposa, Anaian, Louise, Pedro, Ananda e Taisa*

*À minha orientadora que sempre depositou muita confiança no nosso trabalho*

*À toda mãe natureza, em especial à fauna e flora brasileira*

*À todos estados do nosso Brasil e aos amigos que encontrei pelos caminhos da vida...*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Bom Deus, que nos concedeu Jesus Cristo como mestre para aprendermos a carregar diariamente nossa Cruz.

Agradeço ainda a minha esposa Samantha Santana Costa pelo ombro amigo nos momentos difíceis da caminhada da vida e ao presente que Deus nos deu: a pequena Louise.

Agradeço a minha família, na pessoa da minha mãe Marisnal Cardoso Peixoto pelas batalhas que enfrentou sozinha, sonhando com dias melhores em nossas vidas.

À minha irmã Taisa Peixoto, aos eternos bebês Anaian, Pedro e Ananda, meus sorrisos e meu eterno carinho.

Agradeço à minha avó Neli Cardoso, a minha avó Ilda Ribeiro e a meu avô José Amadeu Ferreira Ribeiro, bases para a minha formação humana.

Agradeço à minha cunhada Ana Lis Santana e à minha sogra Maria Lis Santana que me auxiliaram neste término de doutorado, cuidando da minha filha durante minha ausência.

Agradeço à minha família em Roraima, ao meu pai José Henrique Ferreira Ribeiro, Susan Ribeiro, Cláudia Thais Ribeiro, Washington Ribeiro, Ícaro Ribeiro, Emmanuele Ribeiro e Melissa Ribeiro pelo carinho e companhia em Roraima.

Agradeço aos meus familiares de Boa Vista (Roraima) e Manaus (Amazonas) que estiveram comigo todos estes anos, em especial a Maria Ester Cardoso Peixoto, Auristela Almeida, Maria Eduvirgens Cardoso Peixoto, Mailton Cardoso Peixoto, Mardeus Rjoldt Cardoso Peixoto, Milton Cardoso Peixoto, Marineide Cardoso Peixoto, Lúcio Flávio Cardoso e Marilena Cardoso Peixoto.

Agradeço aos meus familiares de Porangatu (Goiás), especialmente Sandra Maria Ferreira Ribeiro, Ieda Maria Ferreira Ribeiro, Rita Maria Ferreira Ribeiro, João Paulo Ferreira Neto, Marcilio Ferreira Ribeiro, Ildo Ferreira Ribeiro, Cláudio Caetano da Silva, Weliton Ferreira Ribeiro, Jackson Ferreira Ribeiro, Rosa Fagundes Ribeiro, Frank Fagundes Ribeiro, Fernando Fagundes Ribeiro, Flávio Fagundes Ribeiro, Reges Ferreira Ribeiro, Américo Ribeiro Brasil, Max Ribeiro, Mayck Ribeiro, Amadeu Ribeiro Filho, Uiara Ribeiro, Urana Ribeiro, Uilson Ribeiro, Amadeu Ribeiro Neto e Marijone Ferreira Ribeiro.

Agradeço a Professora Valéria de Sá Jayme que tem me orientado desde os tempos de estágio da graduação, cuidando pacientemente dos meus caminhos no mestrado e no doutorado, guiando-me mesmo quando tudo parecia sem uma estrada definida, me desafiando a ser melhor profissionalmente.

Agradeço aos amigos da Universidade Federal do Tocantins, onde realizei o curso de Graduação e dei os primeiros passos em Medicina Veterinária, em especial à minha equipe e



aos servidores terceirizados: Helcileia Dias Santos, Thássia Silva Reis e Samara Rocha Galvão. Aprendi muito com vocês! Se sou o profissional que sou hoje, devo a cada uma das três.

Agradeço a toda Universidade Federal de Goiás, e a Faculdade de Medicina da UFG e a Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG que foram minhas primeiras experiências profissionais após a graduação e que possibilitaram meu amadurecimento como pessoa e profissional, em especial aos Professores, Técnicos e Discentes Maria Lurdes da Luz Carvalho, Elson Gonçalves de Andrade, Renato Miranda de Melo, Maria Auxiliadora Andrade, Aires Manoel de Souza, Denise Teixeira, Thaís Miranda Silva Freitas, Rebecka Cristine de Bastos Costa, Sebastiana Adriana Pereira Sousa e Thiago Souza Azeredo Bastos, além de outros tantos amigos da UFG que com certeza sempre terão a minha gratidão.

Agradeço ao Professor Marcos Rogério André que me guiou pelo caminho da protozoologia e a Maria Eduarda Chiaradia Furquim minha amiga em Jaboticabal. Agradeço ainda aos doutores Adriano Rubini e Karina Paduan pelo auxílio nas análises moleculares.

Agradeço a todos os amigos do Grupo Nacional de Veterinários-PCCTAE, em especial à Bruno Cesar Ferreira Gonzaga, Paulo Roberto Spiller, Marco Antonio Ritter e Lucas Marlon Freiria.

Agradeço aos membros da banca de defesa e de qualificação, titulares e suplentes, pois sem vocês seria difícil aperfeiçoar nosso trabalho.

Agradeço a todos os professores e técnicos-administrativos educacionais que me acompanharam desde os tempos de ensino infantil, fundamental e Médio nas Escolas: Jardim de Infância Vovó Júlia (Caimbé, Boa Vista-RR), Pré-Escolar Diva Lima (São Francisco, Boa Vista-RR), Escola Estadual Lobo D'almada (Centro, Boa Vista-RR), Escola Estadual O Pescador (São Pedro, Boa Vista-RR), Escola Municipal Anne Frank (114 Norte, Palmas-TO), Escola Estadual Gonçalves Dias (São Pedro, Boa Vista-RR), Escola Estadual José de Alencar (Centro, Rorainópolis-RR), Centro de Ensino Médio de Palmas (113 Norte, Palmas-TO) e Escola Técnica Federal de Palmas (310 Sul, Palmas-TO).

Agradeço a todo povo brasileiro que financia a estrutura das Universidades e Institutos Federais com seus impostos, pois sem esse auxílio seria impossível construir um Brasil mais desenvolvido e mais justo, e com o qual honramos em nosso trabalho como servidores públicos.

Agradeço em especial à comunidade indígena, pois somos acima de tudo um povo humano e hospitaleiro. Como diz o ditado de nossa terra “Tudo índio, tudo parente”.

À todas as pessoas que Deus colocou em minha trajetória até aqui, inclusive os que não constam nesta singela lista, pois não foi ao acaso que nos encontramos pelas estradas da vida e tenham a certeza de que há a marca da presença de cada um de vocês em meu espírito.

“Porque se chamava moço  
 Também se chamava estrada  
 Viagem de ventania  
 Nem lembra se olhou pra trás  
 Ao primeiro passo, aço, aço...  
 Porque se chamava homem  
 Também se chamavam sonhos  
 E sonhos não envelhecem...”

*Clube da Esquina II – Milton Nascimento, Lô Borges e Marcio Borges*

“Cai o sol na terra de Makunaima  
 Boa Vista no céu, lua cheia de mel  
 sob a serra de Pacaraima  
 eu sou de Roraima  
 surubim, tucunaré, piramutaba  
 sou pedra pintada, buriti, bacaba  
 Caracaranã, farinha d’água, tucumã  
 curumim te espera cunhantã  
 um boto cantando no rio  
 beijo de caboco no cio  
 parixara na roda de abril, se abriu  
 linha fina no meu jandiá  
 carne seca, xibé, aluá  
 jiquitaia, caxiri, taperebá...”

*Makunaimando - Zeca Preto e Neuber Uchoa*

“Ando devagar porque já tive pressa  
 E levo esse sorriso  
 Porque já chorei demais  
 Hoje me sinto mais forte  
 Mais feliz, quem sabe  
 Só levo a certeza  
 De que muito pouco sei  
 Ou nada sei...”

*Tocando em Frente - Almir Sater e Renato Teixeira*

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....</b>   | <b>01</b> |
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>01</b> |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>   | <b>03</b> |
| <b>2.1. Felinos domésticos e sua relação com o homem.....</b>  | <b>03</b> |
| <b>2.2. Toxoplasmose.....</b>  | <b>05</b> |
| 2.2.1. Agente etiológico.....  | 05        |
| 2.2.2. História e relevância em Saúde Pública e Medicina Veterinária.....  | 06        |
| 2.2.3. Aspectos epidemiológicos.....   | 07        |
| 2.2.4. Diagnóstico.....  | 08        |
| 2.2.5. Profilaxia.....   | 09        |
| <b>2.3. Neosporose.....</b>  | <b>10</b> |
| 2.3.1. Agente etiológico.....  | 10        |
| 2.3.2. História e relevância em Medicina Veterinária.....  | 12        |
| 2.3.3. Aspectos epidemiológicos.....   | 13        |
| 2.3.4. Diagnóstico.....  | 15        |
| 2.3.5. Profilaxia.....   | 17        |
| <b>2.4. Brucelose.....</b>   | <b>18</b> |
| 2.4.1. Agente etiológico.....  | 18        |
| 2.4.2. História e relevância em saúde pública e medicina veterinária.....  | 19        |
| 2.4.3. Aspectos epidemiológicos.....   | 20        |
| 2.4.4. Diagnóstico.....  | 23        |
| 2.4.5. Profilaxia.....   | 26        |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>   | <b>27</b> |
| <b>3.1 Objetivo geral.....</b>   | <b>27</b> |
| <b>3.2 Objetivos específicos.....</b>  | <b>27</b> |
| <b>4. REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>CAPÍTULO 2 - FATORES ASSOCIADOS E PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS<br/>CONTRA <i>Toxoplasma gondii</i> E <i>Neospora</i> spp. EM GATOS (<i>Felis silvestris catus</i>) DO<br/>MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS, BRASIL.....</b>         | <b>39</b> |
| 1. Introdução.....   | 40        |
| 2. Material e Métodos.....   | 41        |
| 2.1. Área de estudo.....   | 41        |
| 2.2. Amostragem.....   | 41        |
| 2.3. Colheita das amostras e coleta de dados.....  | 42        |
| 2.4. Detecção de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> e anti- <i>Neospora</i> spp.....  | 42        |
| 2.5. Análise estatística.....  | 43        |
| 3. Resultados e Discussão.....   | 43        |
| 4. Conclusões.....   | 49        |
| 5. Referências.....  | 50        |
| <b>CAPÍTULO 3 – SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-<i>Leptospira</i> spp. E<br/>ANTI-<i>Brucella abortus</i> E FATORES ASSOCIADOS EM GATOS (<i>Felis silvestris<br/>catus</i>) DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS, BRASIL.....</b> | <b>54</b> |
| <b>1. Introdução.....</b>  | <b>55</b> |
| <b>2. Material e métodos.....</b>  | <b>55</b> |
| 2.1 Área de estudo.....  | 55        |
| 2.2. Amostragem.....   | 56        |
| 2.3. Colheita das amostras e coleta de dados.....  | 56        |

|   |            |
|---|------------|
| 2.4. Detecção de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp.....  | 56         |
| 2.5. Detecção de anticorpos anti- <i>Brucella abortus</i> .....   | 57         |
| 2.6. Análise estatística.....   | 57         |
| <b>3. Resultados e discussão.....</b>   | <b>58</b>  |
| <b>4. Conclusões.....</b>   | <b>62</b>  |
| <b>5. Referências.....</b>  | <b>63</b>  |
| <b>CAPÍTULO 4 - DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>Cytauxzoon felis</i> EM FELINOS DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS (Short Communication- Redigido nas Normas do periódico Semina: Ciências Agrárias).....</b> | <b>66</b>  |
| <b>Referências.....</b>   | <b>70</b>  |
| <b>CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>   | <b>73</b>  |
| <b>ANEXO I - Registro da Aprovação da Primeira Coleta de Amostras junto à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (CEUA/UFT).....</b>                                      | <b>75</b>  |
| <b>ANEXO II - Registro da Aprovação da Segunda Coleta de Amostras junto à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (CEUA/UFT).....</b>                                      | <b>76</b>  |
| <b>ANEXO III - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b>  | <b>77</b>  |
| <b>ANEXO IV - Questionário epidemiológico.....</b>  | <b>79</b>  |
| <b>ANEXO V - ARTIGO DE REVISÃO: INFECÇÃO POR <i>Cytauxzoon</i> spp. EM FELINOS DOMÉSTICOS.....</b>  | <b>80</b>  |
| Introdução.....   | 81         |
| Agente etiológico.....  | 81         |
| Histórico da doença e epidemiologia.....  | 82         |
| Patogenia.....  | 84         |
| Sinais Clínicos.....  | 86         |
| Diagnóstico laboratorial e achados patológicos.....   | 87         |
| Tratamento.....   | 90         |
| Profilaxia.....   | 90         |
| Considerações finais.....   | 91         |
| Referências.....  | 92         |
| <b>ANEXO VI - ARTIGO DE REVISÃO: INFECÇÃO POR <i>Leptospira</i> spp. EM GATOS. UMA REVISÃO.....</b>   | <b>101</b> |
| Introdução.....   | 102        |
| Etiologia da infecção por <i>Leptospira</i> spp.....  | 102        |
| Aspectos gerais da epidemiologia da infecção por <i>Leptospira</i> spp.....   | 103        |
| Aspectos específicos da epidemiologia da infecção por <i>Leptospira</i> spp. em felinos.....  | 104        |
| Sinais Clínicos.....  | 110        |
| Diagnóstico.....  | 112        |
| Tratamento.....   | 113        |
| Considerações finais.....   | 113        |
| Referências.....  | 114        |
| <b>ANEXO VII-NORMAS DA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS.....</b>   | <b>120</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                   |   |
|-------------------|---|
| <b>CAPÍTULO 1</b> |   |
| FIGURA 1 -        | Ultraestrutura de taquizoíta de <i>Toxoplasma gondii</i> ..... 05   |
| FIGURA 2 -        | Ciclo de Vida do <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos..... 07  |
| FIGURA 3 -        | Reação de imunofluorescência indireta utilizando taquizoítos da cepa RH de <i>Toxoplasma gondii</i> e anticorpo anti-IgG felina conjugado. Objetiva de 40x..... 09  |
| FIGURA 4 -        | Principais organelas e estruturas de <i>Neospora caninum</i> ..... 10   |
| FIGURA 5 -        | Ciclo lítico de <i>Neospora caninum</i> . Os taquizoítos se mobilizam por movimentos do citoesqueleto para estabelecimento de um contato inicial mediado pelas secreções do micronema com as proteínas da superfície. O processo de penetração na célula hospedeiro se inicia com a secreção de proteínas das roptrias e dos grânulos densos que darão origem ao vacúolo parasitóforo. Já no interior da célula o taquizoíta se divide por endodiogenia para causar a lise da célula hospedeira liberando novos taquizoítos e dando origem a um novo ciclo lítico ou se diferenciando para bradizoítos em cistos teciduais devido a uma ação do sistema imune do hospedeiro... 11 |
| FIGURA 6 -        | Fotomicrografia eletrônica de parasitos em tecido encefálico de cães da raça Boxer. N: Núcleo; MN: Micronema; MI: Mitocôndria; R: Roptrias; C: Conoide..... 12  |
| FIGURA 7 -        | Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i> ..... 14   |
| FIGURA 8 -        | Esquema representativo da reação de imunofluorescência indireta..... 15   |
| FIGURA 9 -        | Reação apical (setas vermelhas) em reação de imunofluorescência indireta para <i>Neospora caninum</i> em felinos utilizando anticorpo anti-IgG felino..... 16   |
| FIGURA 10 -       | Amostra de citologia aspirativa de lesão cutânea com taquizoítos de <i>Neospora caninum</i> em microscopia óptica com aumento de 1000 X corado pelo método do panótico rápido..... 17   |
| FIGURA 11 -       | Estrutura antigênica de <i>Brucella</i> spp..... 18   |
| FIGURA 12 -       | Ciclo de <i>Brucella abortus</i> nos hospedeiros humanos e animais..... 21  |
| FIGURA 13 -       | Ciclo de vida de <i>Brucella</i> spp. nas células hospedeiras..... 22   |
| FIGURA 14 -       | Gatos ingerindo leite dentro da sala de ordenha automática de fazenda com bovinos, felinos e caninos infectados com <i>Brucella abortus</i> no Egito, 2017..... 23  |
| <b>CAPÍTULO 2</b> |   |
| FIGURA 1-         | Araguaína e sua localização no estado do Tocantins e em relação a Amazônia Legal.. 41   |
| <b>CAPÍTULO 3</b> |   |
| FIGURA 1-         | Reação positiva em amostra de soro de felino no teste de antígeno acidificado tamponado (AAT)..... 61   |
| <b>CAPÍTULO 4</b> |   |
| FIGURA 1-         | Reação em cadeia da polimerase convencional para <i>Cytauxzoon felis</i> . Resultados em amostras biológicas de felinos domésticos testadas com o par de <i>primer C.felis</i> 18S rRNA. (M) Marcador peso molecular de 100pb; (1) controle positivo - felídeo naturalmente infectado; (2) controle negativo - água deionizada; (A1) sangue Gato 1; (A2) sangue Gato 2; (A3) sangue Gato 3. Verificar a positividade do controle positivo pela distribuição da banda na altura de 284pb em gel de agarose a 1% e negatividade das amostras testadas..... 69   |
| <b>ANEXO V</b>    |   |
| FIGURA 1 -        | Macrófago contendo esquizontes de <i>Cytauxzoon felis</i> , onde observam-se merozoítos (setas brancas) e nucléolo proeminente (setas pretas)..... 85   |
| FIGURA 2 -        | Hemácias com piroplasmas característicos de <i>Cytauxzoon</i> sp. em forma de anel (seta preta) em esfregaço sanguíneo de paciente felino..... 88   |
| <b>ANEXO VI</b>   |   |
| FIGURA 1 -        | Frequência da Infecção por <i>Leptospira</i> spp. em gatos de 2005-2017. SAM: Soroaglutinação Microscópica. IC: Isolamento em cultura. CP: Coloração pela Prata. ID: Imunofluorescência Direta. PCRc – Reação em Cadeia de Polimerase – Convencional. qPCR – Reação em Cadeia de Polimerase - Real Time..... 106  |
| FIGURA 2 -        | Frequência da Infecção por <i>Leptospira</i> spp. em gatos na literatura nacional por estado da federação no período 2003-2015. SAM: Soroaglutinação Microscópica..... 108  |

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

|            |   |    |
|------------|---|----|
| TABELA 1 - | Prevalência de anticorpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> em 180 amostras de soro de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, 2019, segundo o título testado.....          | 43 |
| TABELA 2 - | Análise bivariada de risco para infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em felinos amostrados (N=180) do município de Araguaína, Tocantins, Brasil, 2019 e variáveis epidemiológicas..... | 45 |
| TABELA 3 - | Prevalência de anticorpos contra <i>Neospora</i> spp. em 180 amostras de soro de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, 2019, segundo o título testado.....              | 47 |
| TABELA 4 - | Análise bivariada de risco para infecção por <i>Neospora</i> spp. em felinos amostrados (N=180) do município de Araguaína, Tocantins, Brasil, 2019 e variáveis epidemiológicas.....     | 48 |

### CAPÍTULO 3

|            |   |    |
|------------|---|----|
| TABELA 1 - | Prevalência de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em 180 amostras de soro de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, 2019, segundo o título testado.....          | 58 |
| TABELA 2 - | Análise bivariada de risco para infecção por <i>Leptospira</i> spp. em felinos amostrados (N=180) do município de Araguaína, Tocantins, Brasil, 2019 e variáveis epidemiológicas..... | 60 |

**LISTA DE QUADROS****ANEXO V**

|            |   |    |
|------------|---|----|
| QUADRO 1 - | Felídeos infectados por <i>Cytauxzoon</i> spp. no Brasil entre 2007-2018..... | 83 |
|------------|---|----|

**LISTA DE ABREVIATURAS**

|          |   |
|----------|---|
| AAT      | Teste do antígeno acidificado tamponado   |
| ABINPET  | Associação brasileira da indústria de produtos para animais de estimação        |
| CEUA     | Comissão de ética no uso de animais   |
| CCZ      | Centro de controle de zoonoses  |
| DNA      | Ácido desoxirribonucleico   |
| EVZ-UFG  | Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás              |
| EMVZ-UFT | Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins |
| EMJH     | Meio Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris                                 |
| FIV      | Vírus da imunodeficiência felina  |
| GO       | Goiás   |
| HD       | Hospedeiro definitivo   |
| HI       | Hospedeiro intermediário  |
| MAT      | Teste de soroglutinação microscópica  |
| OIE      | Organização Mundial de Saúde Animal   |
| OMS      | Organização Mundial de Saúde  |
| PBS      | Tampão fosfato salino   |
| PCRc     | Reação em cadeia da polimerase convencional                                     |
| pH       | Potencial hidrogeniônico  |
| RIFI     | Teste de reação de imunofluorescência indireta                                  |
| SISLOC   | Sistema de gerenciamento de localidades do programa de controle de endemias     |
| TO       | Tocantins   |
| UFG      | Universidade Federal de Goiás   |
| UFT      | Universidade Federal do Tocantins   |
| 2-ME     | Teste de 2-mercaptoetanol   |
| °C       | Graus celsius   |



## RESUMO

Felinos domésticos podem ser infectados e parasitados por diferentes patógenos que acarretam prejuízos à homeostase do animal e conseqüentemente sobre seu bem-estar, com relevante impacto na sanidade e potenciais riscos à saúde pública. O objetivo com o desenvolvimento do presente estudo foi detectar patógenos bacterianos (*Leptospira* spp. e *Brucella abortus*) e parasitários (*Toxoplasma gondii*, *Neospora* spp. e *Cytauxzoon felis*) por métodos sorológicos e moleculares em gatos provenientes do município de Araguaína, estado do Tocantins. Foram colhidas 180 amostras de sangue e soro de gatos, após autorização dos tutores mediante o esclarecimento dos objetivos da pesquisa e dos procedimentos a serem realizados nos animais. As amostras foram colhidas por flebocentese das veias jugulares e cefálicas por sistema de sucção a vácuo em tubos contendo ou não anticoagulante e armazenada a -20°C. Em seguida as amostras foram testadas para presença ou ausência de anticorpos contra *Leptospira* spp. pelo teste de soroprecipitação microscópica, contra *Brucella abortus* pelo teste do antígeno acidificado tamponado seguido da confirmação pelo método de 2-mercaptoetanol, e contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. pelo teste de imunofluorescência indireta. Além das análises sorológicas, 75 amostras de sangue foram submetidas a reação em cadeia da polimerase para detecção de DNA de *Cytauxzoon felis* pelo método da reação em cadeia de polimerase convencional. Foram analisadas as associações entre variáveis epidemiológicas (idade, sexo, raça, procedência e presença de sinais clínicos) e a soropositividade em testes sorológicos para os diferentes patógenos por meio do teste de chi-quadrado ( $\chi^2$ ). Foi obtida uma soroprevalência de 48,3% (87/180; IC95%: 40,8-55,90%) de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, 3,9% (7/180; IC95%: 1,6-7,8%) anti-*Neospora* spp. e 5,6% (10/180; IC95%: 2,7-10%) anti-*Leptospira* spp. Nenhuma amostra foi positiva para *B. abortus* no diagnóstico sorológico e nenhuma amostra foi positiva para *Cytauxzoon felis* no diagnóstico molecular. A variável sinais clínicos e raça estão associadas à detecção de anticorpos anti-*T.gondii*, e a variável raça está associada significativamente para detecção de anticorpos anti-*Neospora*. Não foram constatadas variáveis associadas à soropositividade para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* e anti-*B.abortus*. Conclui-se que há a exposição da população de felinos do município de Araguaína aos patógenos *T.gondii*, *Leptospira* spp. e *Neospora* spp. Esta investigação permitiu ampliar o conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos ligados ao contato dos patógenos estudados com os animais participantes da pesquisa, bem como indicar o potencial de propagação desses patógenos e embasar medidas preventivas que possibilitem reduzir a prevalência de tais infecções na população felina do município de Araguaína.

**Palavras-chave:** Brucelose, Cytauxzoonose, Epidemiologia, Leptospirose, Toxoplasmose.

## ABSTRACT

Domestic cats can be infected and parasitized by different pathogens that cause damage to the animal's homeostasis and consequently on its well-being, with a relevant impact on health and potential risks to public health. The objective with the development of the present study was to detect bacterial (*Leptospira* spp. and *Brucella abortus*) and parasitic (*Toxoplasma gondii*, *Neospora* spp. and *Cytauxzoon felis*) pathogens by serological and molecular methods in cats from the municipality of Araguaína, state of Tocantins. 180 samples of blood and serum from cats were collected, after authorization from the tutors by clarifying the objectives of the research and the procedures to be performed on the animals. The samples were collected by phlebotomy from the jugular and cephalic veins using a vacuum suction system in tubes containing or not anticoagulant and stored at -20°C. Then the samples were tested for the presence or absence of antibodies against *Leptospira* spp. by the microscopic serum agglutination test, against *Brucella abortus* by the acidified buffered antigen test followed by confirmation by the 2-mercaptoethanol method, and against *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. by the indirect immunofluorescence test. In addition to serological analyzes, 75 blood samples were subjected to a polymerase chain reaction to detect *Cytauxzoon felis* DNA using the conventional polymerase chain reaction method. Associations between epidemiological variables (age, sex, race, origin and presence of clinical signs) and seropositivity in serological tests for different pathogens were analyzed using the chi-square test ( $\chi^2$ ). A seroprevalence of 48.3% (87/180; 95% CI: 40.8-55.90%) of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies, 3.9% (7/180; 95% CI: 1.6-7.8%) of anti-*Neospora* spp. and 5.6% (10/180; 95% CI: 2.7-10%) anti-*Leptospira* spp. No sample was positive for *B. abortus* in the serological diagnosis and no sample was positive for *Cytauxzoon felis* in the molecular diagnosis. The variable clinical signs and race are associated with the detection of anti-*T.gondii* antibodies, and the variable race is significantly associated with the detection of anti-*Neospora* antibodies. There were no variables associated with seropositivity to detect anti-*Leptospira* and anti-*B.abortus* antibodies. It is concluded that there is the exposure of the feline population in the municipality of Araguaína to the pathogens *T.gondii*, *Leptospira* spp. and *Neospora* spp. This investigation allowed to expand the knowledge about the epidemiological aspects related to the contact of the studied pathogens with the animals participating in the research, as well as to indicate the potential of propagation of these pathogens and to base preventive measures that allow to reduce the prevalence of such infections in the feline population of the municipality of Araguaína.

**Key-words:** Brucellosis, Cytauxzoonosis, Epidemiology, Leptospirosis, Toxoplasmosis.

## CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### 1. INTRODUÇÃO

Entre os animais com maior proximidade com seres humanos, destacam-se os felinos domésticos, especialmente nas residências brasileiras onde estão presentes em 14,2% dos domicílios da área urbana e 39,4% dos domicílios da área rural<sup>1</sup>. A criação de animais de companhia (mercado *pet*) movimentou no ano de 2018 em torno de R\$ 20,3 bilhões, justificando-se pela crescente identificação do tutor com seu animal de estimação como ente familiar, levando o Brasil a ser o segundo maior mercado *pet* do mundo<sup>2,3,4</sup>.

Uma parte significativa do mercado *pet* para gatos é constituído pelos serviços veterinários em medicina felina, visto que tal espécie apresenta doenças infecciosas e parasitárias específicas, além de particularidades anatômicas e fisiológicas que demandam cuidados especializados<sup>2</sup>. Tais doenças são relacionadas a patógenos que apresentam influência do ambiente e dos contatos inter ou intra-espécies<sup>5,6</sup>. O estreito convívio entre animais/humanos e animais/animais eleva a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos e parasitários, especialmente aqueles de caráter zoonótico.

Uma zoonose importante a nível mundial é a leptospirose causada por diferentes sorovares e espécies de bactéria do gênero *Leptospira* spp., com impacto inclusive em medicina felina, presente tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento e associada principalmente à expansão da população de roedores<sup>7</sup>. *Leptospira* spp. também pode causar enfermidade clínica nos felinos em condições naturais, sendo associada a distúrbios renais e hepáticos, em determinados casos levando ao óbito<sup>7,8</sup>.

Outra bactéria capaz de infectar felinos é *Brucella abortus*, tendo já sido detectada a sua infecção em gatos por meio do isolamento de descarga uterina<sup>9</sup>, detecção molecular<sup>10</sup> e pelo diagnóstico sorológico<sup>11</sup>. Porém, o papel do gato e as vias de infecção ainda não são muito bem conhecidas<sup>9</sup>.

Protozoários como *Neospora caninum* por sua vez também são capazes de acarretar mielite, necrose hepática, pneumonia e encefalite em gatos imunossuprimidos<sup>12</sup>. Além de *N.caninum*, o protozoário *Toxoplasma gondii* também pode causar doença clínica em gatos<sup>13</sup>, que podem apresentar distúrbios neurológicos durante o curso da enfermidade<sup>14</sup>.

Cytauzoonose é outra enfermidade causada por protozoário (*Cytauzoon felis*) que cursa com elevada taxa de mortalidade ainda que instituída terapia intensiva, contudo em linceos americanos (*Lynx rufus*) a infecção geralmente é assintomática<sup>15</sup>. A alta patogenicidade da

cytauxzoonose está ligada à disseminação vascular de esquizontes em capilares sanguíneos, tendo como consequência lesões por hipóxia ou anóxia<sup>16</sup>.

As razões que motivaram o desenvolvimento desta pesquisa foi a elevada relevância em saúde pública e animal das enfermidades provocadas por *Leptospira* spp., *Brucella abortus* e *Toxoplasma gondii*; prevalência, distribuição e sinais clínicos em gatos domésticos das enfermidades causadas pelas bactérias do gênero *Leptospira* spp. e *Brucella* spp., dos protozoários *T. gondii*, *Neospora* spp. e *Cytauxzoon* spp.; crescente papel do gato como animal de estimação; não foram encontrados na literatura dados relativos ao diagnóstico sorológico e molecular de *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella abortus* e *Cytauxzoon felis* em felinos do estado do Tocantins.

Embasado nas informações supracitadas e na relevância das enfermidades em felinos e na saúde pública, o presente estudo foi realizado com o objetivo de investigar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp., *Brucella abortus*, *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp., e a presença de DNA de *Cytauxzoon* spp., bem como investigar potenciais variáveis epidemiologicamente associadas à positividade nos testes sorológicos e moleculares.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Artigos de revisão de literatura produzidos durante o curso, abordando os patógenos *Leptospira* spp. e *Cytauxzoon* spp., estão na lista de anexos, pois foram aceitos e publicados em periódicos veterinários, como registrado a seguir:

- Ribeiro TMP, Santos HD, Sousa SAP, Galvão SR, Reis TS, Jayme VS. **Infecção por *Leptospira* spp. em Gatos (*Felis silvestris catus*): uma Revisão.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. 2018; 12 (1): 101-119. Publicado. (DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20180011>)
- Ribeiro TMP, Santos HD, Reis TS, Sousa SAP, Furquim MEC, André MR, Jayme VS. **Infecção por *Cytauxzoon* spp. em Felinos Domésticos: Revisão.** Revista Medicina Veterinária (UFRPE). 2019; 13 (3). Aceito. (DOI: em processo de emissão).

### 2.1. Felinos domésticos e sua relação com o homem

O gato doméstico (*Felis silvestris catus*) tem como ancestrais selvagens as espécies *Felis silvestris lybica*, *F.s. silvestris*, *F.s. ornata*, *F.s. cafra*, *F.s. bieti*<sup>17</sup>. O início de sua domesticação ocorreu na região do Oriente Médio conhecido como crescente fértil há 11 mil anos sob influência dos rios Tigre e Eufrates, em conjunto com o desenvolvimento da agricultura<sup>18</sup>.

A relação do homem com o felino tornou-se benéfica para ambas as espécies, pois após as colheitas os seres humanos tinham dificuldade em controlar a população de roedores e com o passar do tempo observaram que o felino poderia se tornar um aliado na proteção dos cereais colhidos, reduzindo conseqüentemente as perdas de armazenamento<sup>18</sup>.

No Brasil, muito provavelmente o felino foi levado em navios europeus no período colonial devido à sua utilização para evitar as invasões de roedores nos depósitos navais. Atualmente, de acordo com a última pesquisa nacional de saúde realizada em 2015 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), os felinos estão presentes em 17,7% dos lares brasileiros com uma população estimada em 22,1 milhões<sup>1</sup> O mercado *pet* para felinos teve um crescimento de 8,3% no período de 2013-2018, enquanto para cães foi de apenas 3,8%<sup>2</sup>.

O crescimento da participação dos gatos no mercado *pet* se deve a sua menor dependência dos tutores e uma maior adaptação a ambientes com espaço físico limitado em comparação com os cães<sup>3,4</sup>. Todavia é essencial ao bem-estar animal o enriquecimento do ambiente, mesmo que este seja restrito<sup>3,4</sup>. Tais características favorecem a procura dos gatos como animais de companhia, especialmente em ambientes intensamente urbanizados com

maior presença de edificações verticais. Contudo, a presença dos felinos domésticos ainda é maior na zona rural do Brasil do que na zona urbana<sup>1</sup>.

Existem diversas classificações dos gatos domésticos associado ao tipo de relacionamento estabelecido com os humanos, entretanto a classificação dada pela Organização Mundial de Saúde (OMS)<sup>19</sup> continua sendo a principal a nível internacional. Tal classificação<sup>19</sup> se baseia pelo grau de dependência dos seres humanos e a restrição de movimentação em:

- animal restrito e supervisionado: dependência total dos seres humanos, com mobilidade totalmente restrita;
- animal familiar: dependência total dos seres humanos e com mobilidade parcialmente restrita;
- animal de vizinhança: dependência parcial de coletividades de seres humanos, com mobilidade parcialmente restrita ou mesmo ausência de restrição;
- animal feral: totalmente independente de seres humanos, com mobilidade irrestrita, podendo se alimentar de sobras humanas ou da caça de presas.

Outras classificações realizadas dividem os felinos domésticos em: gatos domiciliados (subdividindo-se em domiciliados com restrição ou sem restrição de locomoção), gatos comunitários, gatos errantes e gatos ferais<sup>20</sup>. Tais classificações podem ser úteis nos estudos epidemiológicos para categorizar qual parte da população felina teria maior ou menor risco de enfermidades de acordo com o grau de exposição aos patógenos estudados.

A convivência dos gatos e seres humanos na zona urbana, rural e silvestre, como exposto anteriormente, acarreta situações problemáticas, tais como destruição da fauna local, acidentes de trânsito, mordeduras ou o estabelecimento dos gatos como reservatórios de micro-organismos passíveis de transmissão aos seres humanos<sup>21</sup>.

Considerando a crescente presença felina nos domicílios brasileiros, e conseqüentemente aumento da proximidade com os seres humanos, os estudos seccionais-transversais, moleculares e microbiológicos das principais enfermidades em medicina felina são relevantes ferramentas epidemiológicas para analisar os aspectos associados a tais doenças e para o desenvolvimento de medidas de controle.

## 2.2. Toxoplasmose

### 2.2.1. Agente etiológico

*Toxoplasma gondii* é o agente etiológico causador da toxoplasmose animal e humana. É um parasito que tem como hospedeiros definitivos os felídeos<sup>21</sup>. Estudos sorológicos indicam a infecção em várias espécies animais domésticas e silvestres, e nos seres humanos<sup>21</sup>.

Pertence ao Reino Protista, Sub-reino dos Protozoários, Filo Apicomplexa, classe Sporozoasida, Ordem Eucoccidiorida, Família Sarcocystidae, Sub-família Toxoplasmatinae e gênero *Toxoplasma* spp.<sup>22</sup>.

O filo Apicomplexa inclui ainda parasitos obrigatórios que são agentes de doenças de relevância médica e veterinária em vertebrados, tais como *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. e *Sarcocystis* spp.<sup>22</sup>.

*Toxoplasma gondii* é um organismo unicelular eucarionte e tem a presença do complexo apical, que representa um conjunto de organelas no ápice anterior da célula, responsável pela invasão do parasita a nível celular no hospedeiro<sup>22,23</sup>.

O complexo apical possui três organelas principais que são exocitadas, que consistem nas roptrias, micronemas e grânulos densos. Os micronemas estão relacionados ao reconhecimento, seleção inicial das células dos hospedeiros, ligação e possivelmente a mobilidade dos parasitas<sup>24,25</sup>. Já as roptrias por sua vez são relacionadas à formação de vacúolos parasitóforos e os grânulos densos ao remodelamento do vacúolo após a invasão (Figura 1)<sup>24,25</sup>.

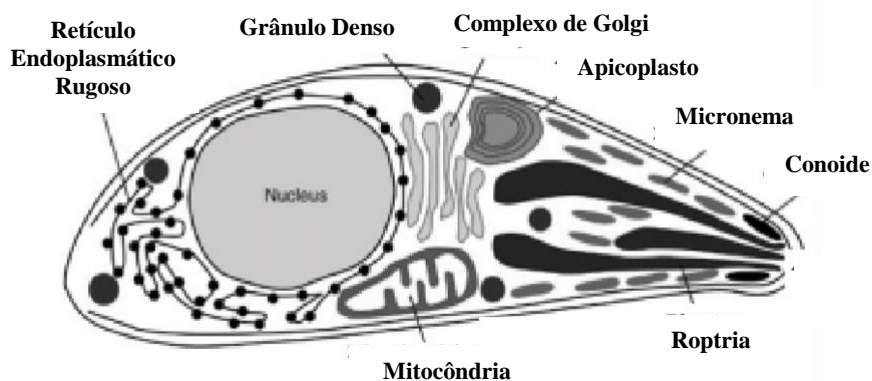


FIGURA 1 - Ultraestrutura de taquizoíta de *Toxoplasma gondii*.  
Fonte: Adaptado de Ajioka et al.<sup>26</sup>

*T.gondii* apresenta subpopulações de linhagens genéticas clonais caracterizadas como genótipos I, II, III e um novo tipo clonal caracterizado como tipo 12, procedentes de isolamentos em amostras de animais e humanos da Europa e América do Norte<sup>27,28,29</sup>.

A América do Sul e Central por sua vez apresentam cepas isoladas com novas e elevadas combinações alélicas produzidas muito possivelmente por meio da reprodução sexuada em felídeos, mas que conservam classes alélicas ancestrais idênticas às apresentadas nas linhagens clássicas (I, II e III)<sup>30,31,32</sup>.

No Brasil as linhagens encontradas percentem a quatro tipos: Br I, Br II, Br III e Br IV<sup>33</sup>. As linhagens do genótipo I e III, diferentemente do genótipo II (menor patogenicidade e infecção com caráter crônico) apresentam patogenicidade significativa, sendo as cepas do tipo I (aguda) com maior patogenicidade levando camundongos a óbito em cerca de cinco a dez dias pós-inoculação de taquizoítos, enquanto as do tipo III (cistogênicas) podem ou não levar os animais a óbito entre o 11º-21º dia<sup>26,34,35,36</sup>.

#### 2.2.2. História e relevância em Saúde Pública e Medicina Veterinária

*T. gondii* é originário da Floresta Amazônica<sup>37</sup>, onde evoluiu e ainda possui uma alta diversidade genética<sup>38</sup>. Historicamente, a primeira descrição de *T.gondii* ocorreu no Brasil por Splendore<sup>39</sup> em um espécime de *Oryctolagus cuniculus* (Coelho europeu) e na Tunísia por Nicolle e Manceux<sup>40</sup> no roedor *Ctenodactylus gundi*. Posteriormente, veio a ser verificado que o parasita descrito em ambos países<sup>39,40</sup> possuía importância em saúde pública.

Na América do Sul a prevalência da detecção de anticorpos contra *T. gondii* em humanos pode variar entre 50 a 80%<sup>41</sup>. Contudo, a apresentação clínica da enfermidade em seres humanos é menos comum, sendo estimado que cerca de 90% das infecções são assintomáticas<sup>42</sup>. Os dois maiores surtos mundiais de toxoplasmose humana ocorreram no Brasil, um em 2002 em Santa Isabel do Ivaí-PR<sup>43</sup>, com 426 casos confirmados, e outro mais recentemente, em Santa Maria-RS<sup>44</sup>, com 809 casos confirmados em 2018.

*T. gondii* também apresenta elevado impacto em saúde animal. Em felinos a sua prevalência pode ser maior que 80%<sup>35</sup>. O parasito pode acometer mais gravemente caprinos, ovinos e suínos, podendo acarretar abortos nessas espécies, diferentemente dos bovinos e equinos, que por sua vez são menos susceptíveis a apresentar a enfermidade clínica<sup>45,46</sup>.

Relatos de casos de toxoplasmose aguda grave em pacientes felinos imunossuprimidos são reportados no Brasil<sup>47</sup> e em pacientes felinos imunocompetentes na África do Sul<sup>48</sup>. Os sinais clínicos apresentados por felinos que contraem a toxoplasmose são: diarreia, febre, hepatite, convulsões, icterícia, paresia dos membros e pneumonia<sup>49</sup>.

Portanto, *T.gondii* acomete animais e seres humanos em proporção relevante a nível global, fazendo com que seja necessário o conhecimento do papel de cada hospedeiro, seja ele animal ou humano, na epidemiologia da toxoplasmose.



### 2.2.3. Aspectos epidemiológicos

*T. gondii* possui, em seu ciclo, uma fase sexuada e assexuada. A fase sexuada ocorre a nível intestinal com posterior eliminação fecal de oocistos em diversas espécies de felídeos, entre as quais espécies de *Puma concolor* (onça vermelha), *Felis bengalensis euphilurus* (gato leopardo), *Lynx rufus* (lince norte-americano), *Acinonyx jubatus* (guepardo), *Felis silvestris silvestris* (gato selvagem europeu) e *Felis silvestris lybica* (gato selvagem africano)<sup>35,50,51,52</sup>. A fase assexuada por sua vez ocorre em tecidos variados de animais homeotérmicos carnívoros, onívoros e herbívoros, entre eles se destacando os roedores e aves na transmissão aos felinos<sup>53</sup>.

*T. gondii* compreende em seu ciclo três estágios de desenvolvimento (esporozoíto, taquizoíto e bradizoíto) que permitem a infecção em hospedeiros definitivos e intermediários. Estes três estágios do ciclo de *T. gondii* podem ser transmitidos pela via vertical (congênita), por meio da veiculação transplacentária de taquizoítos, pela via horizontal através da ingestão de esporozoítos (oocistos) na água e alimentos contaminados (fecal-oral) ou de carnes cruas e mal-cozidas (carnivorismo) contendo bradizoítos ou taquizoítos presentes em tecidos de hospedeiros intermediários<sup>35,54,55</sup> (Figura 2).

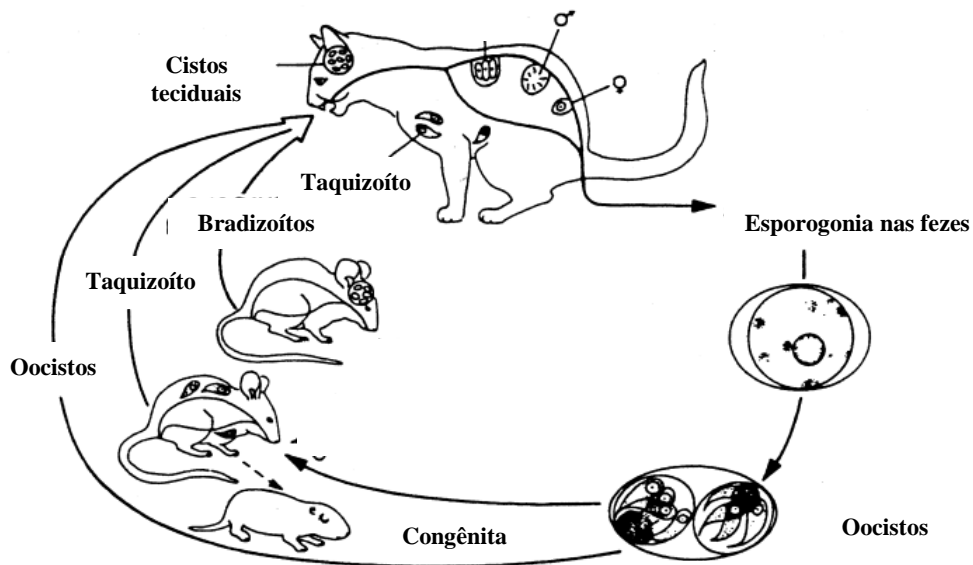


FIGURA 2 - Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* em gatos.  
Fonte: Adaptado de Dubey<sup>55</sup>.

Após a ingestão de oocistos, taquizoítos ou bradizoítos por felídeos, *T. gondii* penetram o epitélio intestinal dando origem ao ciclo enteroepitelial intestinal (fase sexuada) onde microgamontes e macrogamontes originam os oocistos<sup>56</sup>. *T. gondii* somente consegue realizar o ciclo enteroepitelial no intestino dos hospedeiros definitivos porque os identifica pelo elevado

acúmulo de ácido linoleico devido à falta fisiológica da enzima alfa-6-dessaturase em felinos, diferentemente dos hospedeiros intermediários<sup>57</sup>.

Os felinos eliminam os oocistos nas fezes a partir de três dias após a ingestão de bradizoítos, acima de 13 dias após ingestão de taquizoítos e acima de 18 dias após a ingestão de oocistos esporulados<sup>55</sup>. A maior parte dos felinos elimina oocistos de uma a duas semanas na primo-infecção, que geralmente ocorre no primeiro ano de vida; contudo pode ocorrer uma nova eliminação caso o animal se infecte novamente com uma cepa heteróloga e ainda nos casos de imunossupressão pelo vírus da imunodeficiência viral felina (FIV), chegando a ser 30% menor do que na primo-infecção<sup>54,58,59</sup>. Os oocistos no ambiente esporulam no período de um a cinco dias dependendo das condições ambientais<sup>60</sup>.

Os oocistos após esporulação dão origem a oito esporozoítos haploides e são ingeridos por hospedeiros intermediários dando início à fase assexuada, penetrando nas células do intestino delgado e se multiplicando rapidamente na forma de taquizoítos<sup>56</sup>. Estes alcançam a corrente sanguínea e se distribuem para vários outros tecidos, especialmente olhos, cérebro, musculatura esquelética e órgãos reprodutivos, onde dão origem aos bradizoítos que se protegem envoltos em cistos devido a ativação do sistema imune do hospedeiro<sup>56</sup>.

Os bradizoítos e taquizoítos presentes nos tecidos dos hospedeiros intermediários podem alcançar o felino pela via oral devido a oferta pelos tutores de sobras de vísceras e carnes cruas ou inadequadamente cozidas, e ainda pelo hábito de caça dos felinos, tendo com principais presas no espaço urbano os pássaros e roedores, dando origem a um novo ciclo sexuado, com posterior eliminação de oocistos, caso as condições lhes sejam favoráveis<sup>61</sup>. Os roedores infectados com *T.gondii* podem ainda ser mais expostos à predação felina devido ao aumento dos níveis de dopamina o que acarreta a perda do medo inato dos roedores aos gatos<sup>62</sup>.

#### 2.2.4. Diagnóstico

O diagnóstico em felinos se baseia na associação dos sinais clínicos com o emprego de exames complementares. Os felinos com toxoplasmose clínica podem apresentar hepatite, icterícia, necrose pancreática, miocardite, encefalite, dermatite, sendo a pneumonia o sinal mais comum<sup>49</sup>.

Para o diagnóstico complementar podem ser utilizadas as técnicas de detecção de oocistos em exames fecais, detecção de taquizoítos por citologia ou detecção de bradizoítos e taquizoítos pela reação em cadeia de polimerase (PCR) ou detecção de anticorpos pelos métodos da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA),

hemaglutinação indireta (HI) ou aglutinação modificada<sup>49,63</sup>. A RIFI é mais sensível e específica que o ELISA e a hemaglutinação indireta<sup>64</sup> (Figura 4).

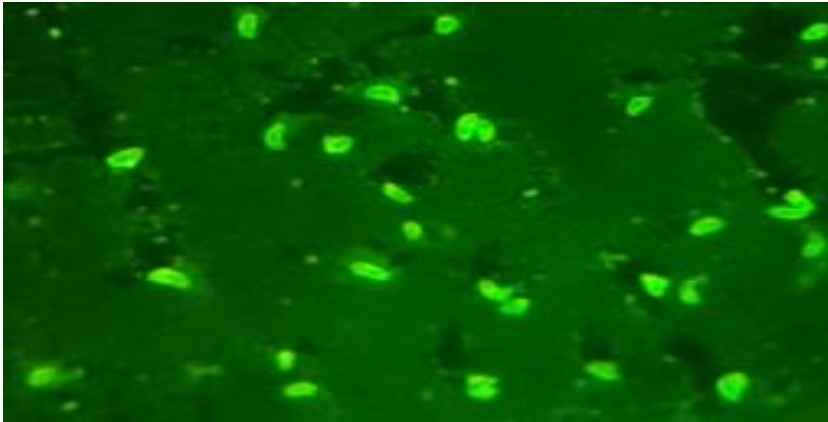


FIGURA 3 - Reação de imunofluorescência indireta utilizando taquizoítos da cepa RH de *Toxoplasma gondii* e anticorpo anti-IgG felina conjugado. Objetiva de 40x.

Deve-se enfatizar que um gato, ao eliminar oocistos, ainda não desenvolveu anticorpos detectáveis contra *T.gondii*, pois a soroconversão somente ocorre após duas a três semanas<sup>49</sup>. Após o período de soroconversão os felinos param de eliminar oocistos<sup>49</sup>. Por isto, é interessante que sejam utilizadas em conjunto técnicas de diagnóstico coproparasitológico e sorológico.

#### 2.2.5. Profilaxia

As medidas de prevenção se baseiam em reduzir o risco de transmissão de oocistos esporulados, taquizoítos e bradizoítos aos seres humanos e animais. A prevenção se baseia em alimentar os gatos apenas com carnes adequadamente cozidas, administrar apenas água de boa qualidade, dar preferência para as rações comerciais balanceadas nutricionalmente, restrição do acesso de felinos à áreas externas que possuam aves e roedores e limpeza periódica dos gatis<sup>49</sup>.

Já para seres humanos a prevenção se baseia na ingestão de produtos cárneos adequadamente cozidos a 67°C durante dez minutos, ingestão de água fervida ou tratada, proceder ao congelamento de carnes a -18°C durante sete dias, higienizar ferramentas de uso no preparo de carnes e as mãos após mexer em terra ou areia, proteger os alimentos de insetos, lavar rigorosamente verduras, frutas e legumes<sup>65</sup>.

## 2.3. Neosporose

### 2.3.1. Agente etiológico

*Neospora* é um gênero de parasita intracelular de animais com distribuição cosmopolita, que acomete principalmente os cães com sinais nervosos (neosporose canina) e os bovinos com distúrbios reprodutivos (neosporose bovina)<sup>66</sup>. Entretanto, pesquisas de soroprevalência e infecções experimentais já foram evidenciadas em outras espécies<sup>66</sup>.

Esse gênero compreende protozoários coccídeos, pertencente ao Reino Protista, Filo Apicomplexa, Classe Coccidia, Sub-ordem Eucoccidiorida, Família Sarcocystidae, Gênero *Neospora* spp., Espécies *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*<sup>67</sup>.

*Neospora caninum* tem como hospedeiros definitivos diversas espécies de canídeos e como hospedeiros intermediários diversas espécies animais<sup>68</sup>. A infecção por *Neospora hughesi* foi confirmada apenas em equinos e os seus hospedeiros definitivos ainda são desconhecidos<sup>68</sup>.

*Neospora* spp. apresenta características estruturais, antigênicas e moleculares relacionadas a *T.gondii*, fazendo com que, até 1988, *N.caninum* fosse erroneamente diagnosticado como *T.gondii*, embora sejam organismos biologicamente distintos<sup>69</sup>. Por serem pertencentes da mesma família (Sarcocystidae), suas características morfológicas são muito semelhantes (Figura 1).

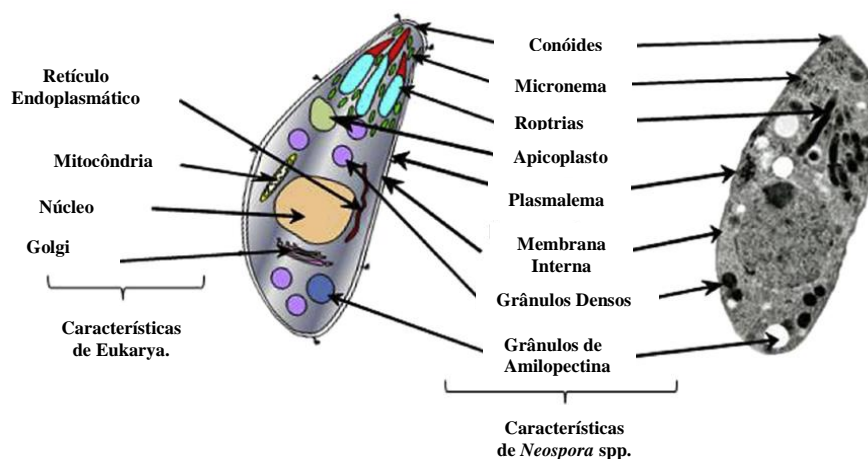


FIGURA 4 - Principais organelas e estruturas de *Neospora caninum*.  
Fonte: Adaptado de Marugan-Hernandez<sup>70</sup>.

Similarmente a outros membros do filo Apicomplexa, possui três estruturas principais relacionadas à invasão celular: roptrias, micronemas e grânulos densos. As funções dos conoides e organelas secretórias (roptrias, micronemas e grânulos densos) não são plenamente conhecidas, porém estão associadas com a penetração na célula hospedeira e produção de um ambiente intracelular favorável ao desenvolvimento do parasita<sup>69,70</sup> (Figura 5).

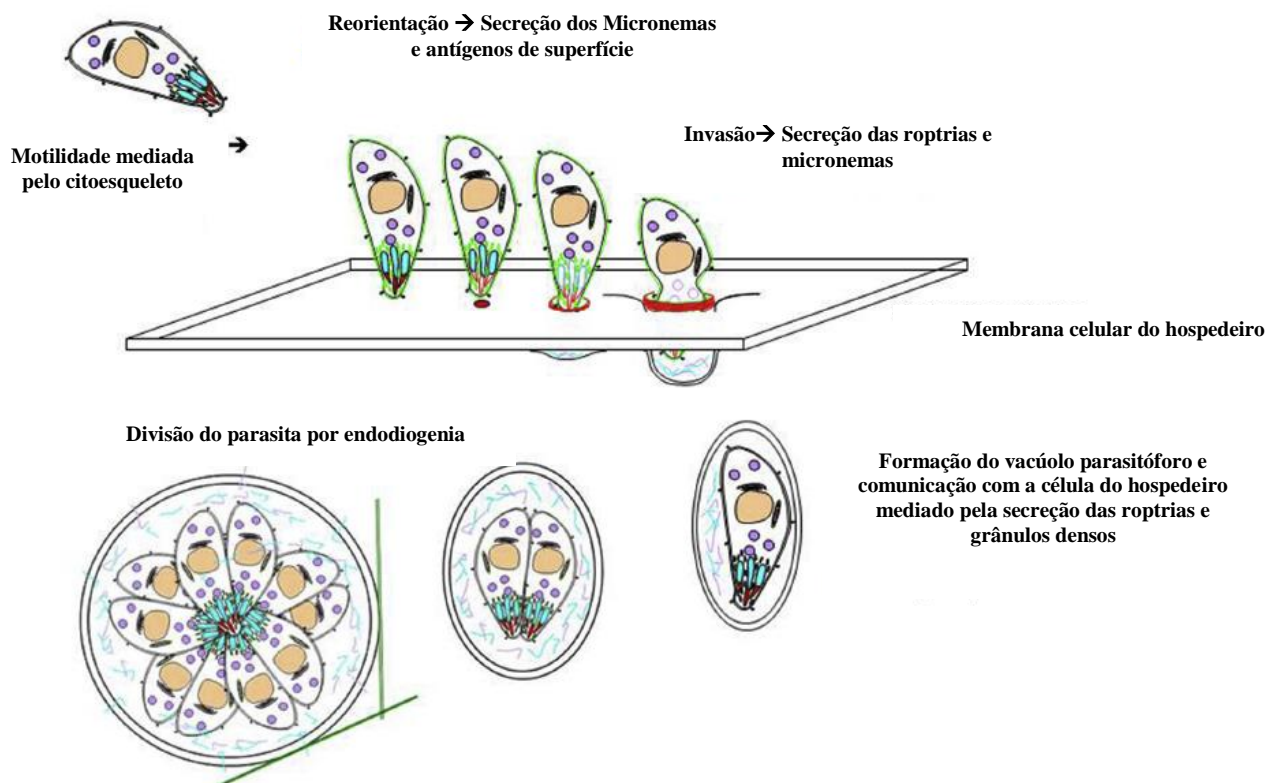


FIGURA 5 - Ciclo lítico de *Neospora caninum*. Os taquizoítos se mobilizam por movimentos do citoesqueleto para estabelecimento de um contato inicial mediado pelas secreções do micronema com as proteínas da superfície. O processo de penetração na célula hospedeira se inicia com a secreção de proteínas das roptrias e dos grânulos densos que darão origem ao vacúolo parasitóforo. Já no interior da célula o taquizoíta se divide por endodiogenia para causar a lise da célula hospedeira liberando novos taquizoítos e dando origem a um novo ciclo lítico ou se diferenciando para bradizoítos em cistos teciduais devido a uma ação do sistema imune do hospedeiro.

Fonte: Marugan-Hernandez<sup>70</sup>.

Semelhante a outras espécies do filo Apicomplexa, também possui três estágios (taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos) durante o seu ciclo de vida<sup>71</sup>. Os taquizoítos são as formas mais patogênicas de *Neospora* spp., representando um estágio de rápida multiplicação, medindo de 2  $\mu\text{m}$  de largura a 7,5  $\mu\text{m}$  de comprimento<sup>69</sup>. Os taquizoítos podem ser cultivados

em linhagens celulares bovinas, humanas e símias, tais como células vero, MARC-145 e MA-104<sup>72</sup>.

Já os bradizoítos são as formas celulares intra-císticas, representando um estágio de multiplicação lenta como consequência de uma ativação do sistema imune do hospedeiro, possuindo um tamanho de 4,8 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1 a 1,9  $\mu\text{m}$  de largura<sup>69</sup>. Os bradizoítos são resistentes à pepsina e ácido clorídrico permanecendo viáveis por tempo indeterminado e sugerindo que um carnívoro deve ingerí-lo para perpetuação do mesmo<sup>73</sup>.

Os oocistos por sua vez encontram-se presentes nas fezes dos hospedeiros definitivos (forma infectante) medindo 11,3 a 11,7  $\mu\text{m}$  de diâmetro (esporulados) e contendo dois esporocistos (6,1 a 8,4  $\mu\text{m}$  de comprimento) com quatro esporozoítos cada um (2  $\mu\text{m}$  de largura por 6,5  $\mu\text{m}$  de comprimento)<sup>69</sup>.

### 2.3.2. História e relevância em Medicina Veterinária

O primeiro relato de *Neospora* spp. foi realizado por Inge Bjerkas, Svein Frederik Mohn e John Prestus<sup>74</sup> na Noruega em 1984 em seis filhotes de cães da raça Boxer procedentes de uma mesma ninhada que eram aparentemente saudáveis dos dois aos seis meses de idade, quando se iniciaram os sinais neurológicos culminando em paresia por vários meses. Na mesma ocasião foi possível visualizar os parasitos por microscopia eletrônica no tecido nervoso e muscular (Figura 6).

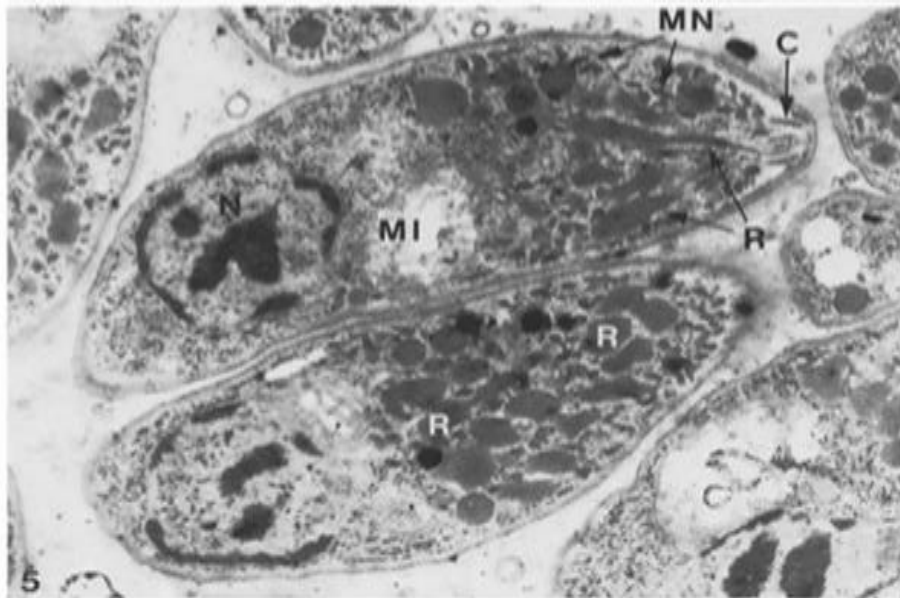


FIGURA 6 - Fotomicrografia eletrônica de parasitos em tecido encefálico de cães da raça Boxer. N: Núcleo; MN: Micronema; MI: Mitocôndria; R: Roptrias; C: Conoide.

Fonte: Adaptado de Bjerkas et al. <sup>74</sup>.

As necropsias revelaram lesões inflamatórias crônicas, sendo mais presentes as lesões no sistema nervoso central do que nos músculos esqueléticos<sup>74</sup>. Estruturalmente, os taquizoítos eram muito semelhantes morfológicamente a *T. gondii*, contudo não apresentam reação positiva no teste sorológico de Sabin-Feldman's e possuíam um número maior de roptrias do que *T. gondii* (>11)<sup>74</sup>. Na mesma pesquisa não se obteve sucesso na inoculação em camundongos. Contudo Bjerkas et al.<sup>74</sup> não denominaram o parasita na mesma época.

Quatro anos depois, Dubey et al.<sup>75</sup> nos Estados Unidos da América (EUA) reportaram a ocorrência de casos clínicos em espécimes caninos com miosite e meningoencefalomielite, e assim como Bjerkas et al.<sup>74</sup>, evidenciaram semelhanças estruturais e diferenças antigênicas, propondo assim a descrição de uma nova espécie, a qual atribuíram como *Neospora caninum*, vindo no mesmo ano a isolar o agente pela primeira vez em cultura celular de monócitos bovinos e do endotélio arterial cardiopulmonar bovino a partir de tecidos de cães com paresia<sup>76</sup>. Foi considerado ainda no mesmo período como relevante patógeno causador de aborto em bovinos nos EUA por Thilsted e Dubey<sup>77</sup>. A descrição dos cães como hospedeiros definitivos por sua vez somente ocorreu em 1998 por McAllister et al.<sup>78</sup> com a evidência de eliminação de oocistos por esta espécie.

Em território brasileiro, a primeira descrição de caso clínico de neosporose ocorreu em 1999 por Gondim et al.<sup>79</sup> na Bahia, em bovino com aborto. Já o primeiro isolamento ocorreu em 2001, também no estado da Bahia, procedente de material encefálico de canino fêmea da raça Collie com sinais clínicos nervosos<sup>79</sup>.

A transmissão de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* é favorável no Brasil, especialmente na zona rural, onde o sistema de criação predominante de bovinos é o extensivo a pasto<sup>81</sup> e onde há um alto número de propriedades rurais com cães e gatos<sup>1</sup>, pois a transmissão por ingestão de oocistos para esta espécie constitui a fonte mais comum de infecção. Portanto, *Neospora caninum* pode acarretar perdas consideráveis de renda na bovinocultura devido ao seu impacto na esfera reprodutiva<sup>82</sup>. *Neospora caninum* é considerado umas das principais causas a nível mundial de aborto por agentes infecciosos em bovinos estimando-se uma perda entre U\$ 1,298 - 2,380 bilhões de dólares anuais na bovinocultura mundial, sendo o impacto mais presente em fazendas de gado leiteiro<sup>83</sup>.

### 2.3.3. Aspectos epidemiológicos

*Neospora* spp. possui um ciclo heteroxênico, sendo classificados seus diferentes hospedeiros em definitivos e intermediários, ocorrendo a fase sexuada nos hospedeiros definitivos e a assexuada em ambos os tipos de hospedeiros<sup>84</sup>.

*Neospora caninum* tem como hospedeiros definitivos as espécies *Canis lupus familiaris*<sup>79</sup>, *Canis lupus dingo*<sup>85</sup>, *Canis lupus lupus*<sup>86</sup> e *Canis latrans*<sup>87</sup> e diversas espécies animais como hospedeiros intermediários<sup>79</sup>. Bovinos, ovinos, búfalos são considerados hospedeiros intermediários de *Neospora caninum* com isolamento realizado no Brasil, contudo, outras espécies também podem atuar como hospedeiros intermediários<sup>71</sup>.

A transmissão para as espécies animais pode ocorrer de forma vertical e de forma horizontal. Na forma horizontal o hospedeiro definitivo ingere bradizoítos de *N. caninum* de tecidos de hospedeiros intermediários ou oocistos eliminados no ambiente<sup>88</sup>. Já na forma vertical, o hospedeiro intermediário, após ingerir oocistos ou ter reativação de uma infecção latente, transmite taquizoítos por meio da placenta aos fetos, que podem ser abortados ou infectados congenitamente (Figura 7)<sup>89</sup>.

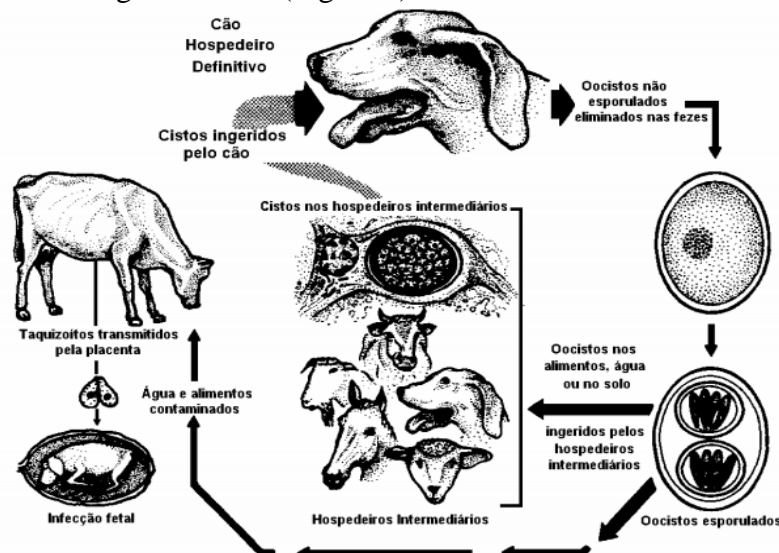


FIGURA 7 - Ciclo biológico de *Neospora caninum*.

Fonte: Adaptado de Dubey<sup>91</sup>.

Os oocistos esporulados eliminados pelo hospedeiro definitivo são ingeridos por um hospedeiro intermediário, onde os esporozoítos após penetrar na parede intestinal irão se diferenciar em taquizoítos, se multiplicando de forma assexuada e se disseminando para diversos órgãos durante a fase aguda da infecção<sup>70</sup>. A ativação da resposta imune do hospedeiro intermediário provoca a diferenciação de taquizoítos em bradizoítos que são protegidos por um cisto tecidual que constitui a fase persistente da infecção<sup>70</sup>. Caso o hospedeiro definitivo faça a ingestão de cistos contendo bradizoítos, estes irão, após cinco dias, se diferenciar em formas sexuais formando oocistos que, após eliminação nas fezes, podem esporular de 24-72 horas em condições adequadas<sup>90</sup>.



#### 2.3.4. Diagnóstico

Os gatos apresentam sinais clínicos semelhantes aos de cães como lesões neurológicas e músculo-esqueléticas, contudo em cães já foram evidenciadas infecções naturais e experimentais, e em gatos apenas infecções experimentais<sup>88,92</sup>. Em Bovinos, outra espécie muito afetada por *Neospora* spp., os principais sinais clínicos apresentados são na esfera reprodutiva, tais como abortos ou bezerras que nascem congenitamente infectados<sup>88</sup>.

Em gatos a transmissão transplacentária de *N. caninum* já foi descrita experimentalmente e sinais clínicos como placentite, metrite, hepatite e nefrite foram evidenciados nas fêmeas infectadas, bem como morte fetal<sup>93</sup>. Estudos experimentais não conseguiram evidenciar os gatos como hospedeiros definitivos de *N. caninum* através da inoculação oral e inoculação parenteral com posterior tentativa de recuperação de oocistos fecais<sup>94</sup>.

Em outros estudos com infecção experimental por *N. caninum* em gatos imunossuprimidos constataram-se outros sinais clínicos tais como encefalite necrosante, mielite, necrose hepática, pneumonia, necrose tubular renal e necrose do músculo esquelético<sup>95</sup>.

Os sinais clínicos apresentados pelo paciente, assim como o emprego de técnicas laboratoriais complementares permitem ao clínico determinar o diagnóstico de neosporose. Atualmente encontram-se disponíveis as técnicas de histopatologia, citologia, imunohistoquímica, ensaio imunoenzimático (ELISA), *immunoblotting* e reação de imunofluorescência indireta (RIFI)<sup>88,92</sup>.

Os testes sorológicos de RIFI e ELISA necessitam de um anticorpo secundário espécie-específico (conjugado) (Figura 8), com a diferença de que na RIFI são utilizados os taquizoítos íntegros, os quais são incorporados a um processo de fixação nas lâminas utilizadas, enquanto que no ELISA são utilizados extratos de taquizoítas<sup>96</sup>.

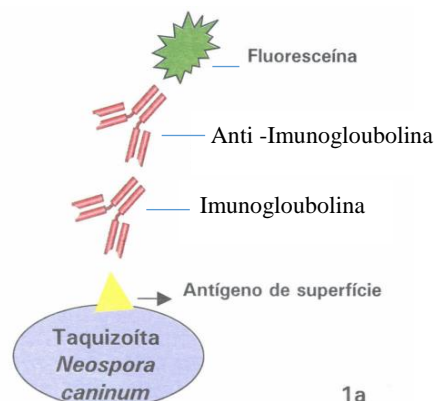


FIGURA 8 - Esquema representativo da reação de imunofluorescência indireta.

Fonte: Adaptado de Andreotti et al.<sup>96</sup>

Durante a execução da RIFI (padrão-ouro), anticorpos do animal soropositivo se ligam aos antígenos de superfície dos taquizoítos, para em seguida um anticorpo anti-Ig da espécie animal (anti-IgG ou anti-IgM) conjugado com isotiocianato de fluoresceína se ligar no anticorpo do animal sororreagente, sendo detectada pela fluorescência na totalidade da superfície dos taquizoítos, enquanto que a fluorescência reduzida ou fluorescência apenas do complexo apical (reação apical) é considerada como reação cruzada com outras espécies, como *T.gondii*<sup>96</sup>.

O teste ELISA por sua vez é utilizado principalmente quando há necessidade de realização do diagnóstico em um número alto de amostras, podendo ser utilizado ainda como teste de triagem com confirmação pela RIFI<sup>97</sup>.

A fluorescência apical (Figura 9) é justificada pela semelhança antigênica dos conoides do complexo apical de *Neospora caninum*, o qual contém epítomos que demonstram reação cruzada por IgG de *T.gondii* e *Eimeria* spp., contudo não interferem na especificidade da técnica, uma vez que tais resultados são considerados inconclusivos<sup>98</sup>.

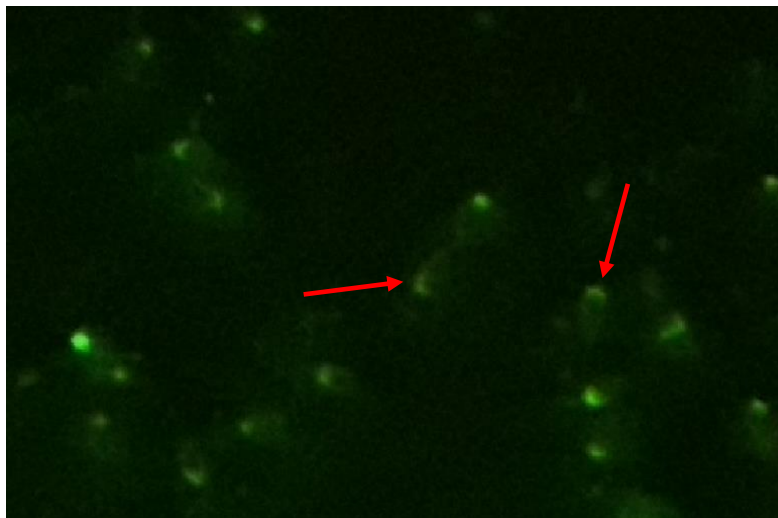


FIGURA 9 - Reação apical (setas vermelhas) em reação de imunofluorescência indireta para *Neospora caninum* em felinos utilizando anticorpo anti-IgG felino.

O diagnóstico sorológico pelo método da imunofluorescência indireta não permite distinguir se a provável infecção ocorreu por *Neospora caninum* ou *Neospora hughesi* devido a reações cruzadas, ainda que sejam utilizados apenas antígenos de *Neospora caninum*<sup>99,100</sup>.

A técnica de PCR-*High resolution melting* (HRM) para detecção de 18S rDNA pode ser utilizada, tendo a capacidade de distinção dos gêneros *Toxoplasma* spp., *Cryptosporidium* spp., *Neospora* spp. e *Sarcocystis* spp.<sup>101</sup>.

A citologia pode ser utilizada, especialmente em lesões cutâneas por *Neospora* spp., sendo necessária a coloração imunohistoquímica ou o uso de PCR, pois *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii* são indistinguíveis pela microscopia óptica (Figura 10)<sup>102</sup>, mas podem ser distinguíveis pela microscopia eletrônica devido a parede do cisto tecidual de *T. gondii* ser menos espessa (<0,5µm) do que a de *Neospora caninum* (1 µm) e por as rhoptrias de *N.caninum* ser eletrodensas<sup>103</sup>.

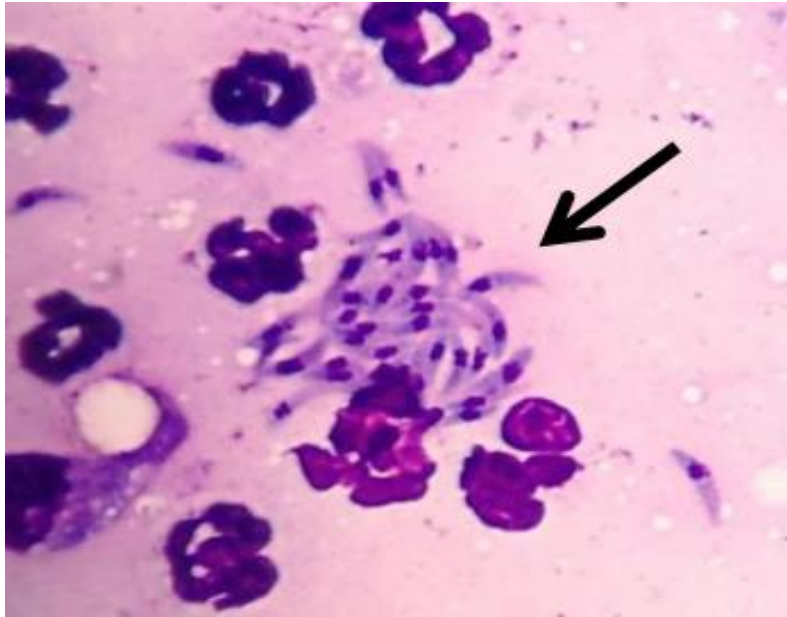


FIGURA 10 - Amostra de citologia aspirativa de lesão cutânea com taquizoítos (seta) de *Neospora caninum* em microscopia óptica com aumento de 1000 X corado pelo método do panótico rápido.  
Fonte: Adaptado de Mann<sup>104</sup>

O diagnóstico coproparasitológico pode ser utilizado, mas os oocistos de *Neospora caninum* não são frequentemente encontrados em amostras de fezes e são também indistinguíveis de outros parasitos do Filo Apicomplexa como *Hammondia* sp<sup>105</sup>.

### 2.3.5. Profilaxia

As principais medidas de prevenção se baseiam no adequado descarte de material fecal de cães de modo que não haja veiculação no ambiente, fornecimento de rações balanceadas para os cães, bem como na restrição da alimentação dos caninos com restos placentários bovinos ou a ingestão de carnes cruas<sup>92</sup>.

Atenção especial deve ser dada aos cães mais jovens (abaixo de 14 meses), pois estes eliminam mais oocistos no ambiente do que os cães com mais de dois anos<sup>106</sup>.

## 2.4. Brucelose

### 2.4.1. Agente etiológico

*Brucella* representa um gênero de bactérias Gram-negativas, intracelulares facultativas pertencendo a subdivisão  $\alpha$ -2 da classe das Proteobactérias<sup>107</sup>. *Brucella abortus* é uma das espécies do gênero *Brucella* spp. que têm potencial zoonótico, afetando várias espécies animais em todo mundo e é encontrada principalmente na América do Sul, Oriente Médio e Mediterrâneo<sup>108</sup>.

Medem de 0,5 a 0,7 x 0,6 a 1,5  $\mu$ m, possuem o formato de bastonetes, cocos ou cocobacilos podendo se agrupar, não possuem cápsula, imóveis, catalase positiva e suas colônias em meio de cultura são elevadas, transparentes, lisas, com superfície brilhante, convexa, com bordos íntegros, sendo os principais meios de cultura utilizados o Meio Farrel, Cita e Ágar Brucella com temperatura ótima de crescimento em 37°C<sup>109,110</sup>.

As colônias de *Brucella* spp. podem ser agrupadas em lisas (translúcidas) ou rugosas (opacas e granulares) de acordo com suas características morfológicas e antigênicas<sup>111</sup>. *Brucella* spp. possui um lipopolissacarídeo (LPS) atípico (não-canônico) e com baixa toxicidade que é considerado o principal fator de virulência deste gênero, pois retarda a resposta imune do hospedeiro, o que possibilita a cronicidade da enfermidade<sup>112</sup>. Os principais componentes da molécula de LPS são um lipídio hidrofóbico A inserido na membrana externa ligado a um núcleo de oligossacarídeo principal associado a uma cadeia hidrofílica O (cadeia O), o qual cobre a superfície bacteriana (Figura 11)<sup>112</sup>.

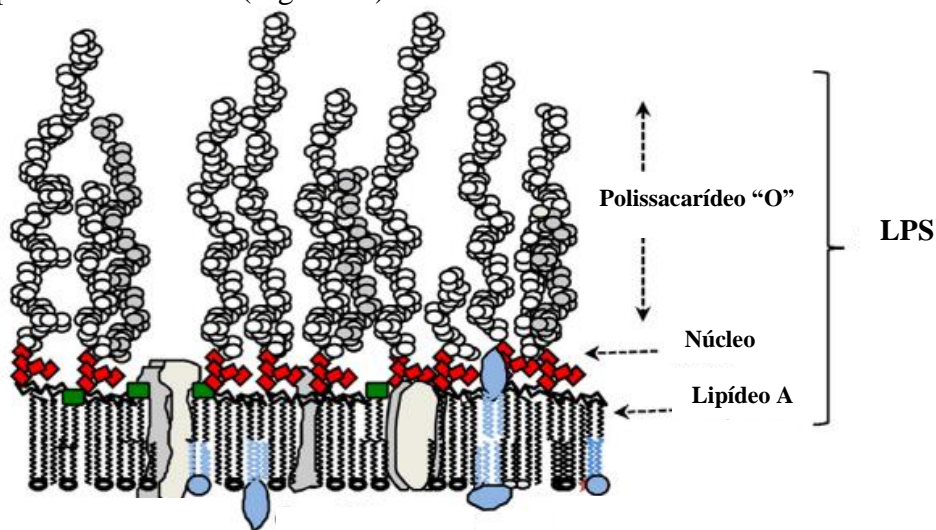


FIGURA 11 - Estrutura antigênica de *Brucella* spp.  
Fonte: Adaptado de Ducrottoy et al.<sup>113</sup>

As colônias lisas de *Brucella* spp. possuem o LPS completo com a cadeia O e o lipídeo A, já as rugosas não possuem a Cadeia O e o seu LPS é incompleto, fazendo com que as lisas apresentem maior virulência devido a presença no lipopolissacarídeo do antígeno O que inibe a via apoptótica da célula fazendo com que o sistema imune não seja ativado e a entrada nos macrófagos seja mais facilitada<sup>114</sup>.

Fazem parte do gênero *Brucella* spp. 12 espécies, sendo consideradas como brucellas do tipo lisa as espécies e seus respectivos hospedeiros preferenciais: *Brucella abortus* (bovinos)<sup>115</sup>, *Brucella suis* (suínos)<sup>116</sup>, *Brucella ceti* (Sub-ordem Cetacea: baleias e golfinhos)<sup>117</sup>, *Brucella inopinata* (humanos)<sup>118</sup>, *Brucella melitensis* (ovinos e caprinos)<sup>119</sup>, *Brucella microti* (*Microtus arvalis*: rato silvestre europeu)<sup>120</sup>, *Brucella vulpis* (raposa)<sup>121</sup>, *Brucella neotomae* (*Neotomae lepida*)<sup>122</sup>, *Brucella papiionis* (babuíños)<sup>123</sup> e *Brucella pinnipedialis* (Super-família Pinnipedia: focas, morsas e leões marinhos)<sup>124</sup>.

As brucellas do tipo rugosa compreendem as seguintes espécies e seus respectivos hospedeiros preferenciais: *Brucella canis* (caninos)<sup>125</sup> e *Brucella ovis* (ovinos)<sup>126</sup>. Das diferentes espécies de *Brucella* spp. sabe-se que *B. ovis* não possui potencial de infecção em humanos e ainda é desconhecida o potencial zoonótico pelas espécies *B. vulpis*, *B. microti* e *B. pinnipedialis*<sup>127</sup>.

#### 2.4.2. História e relevância em Saúde Pública e Medicina Veterinária

Achados arqueológicos indicam que a brucelose poderia apresentar endemicidade na comunidade romana, palestina e na Jordânia possivelmente devido ao hábito da ingestão de leite cru nestas regiões<sup>128</sup>. Estudos indicaram, que no ano de 79 antes de Cristo, em vítimas de erupção de vulcão no Monte Vesúvio na Itália, algumas pessoas poderiam ter brucelose devido a lesões ósseas típicas e detecção de formas bacterianas de cocobacilos por meio de microscopia eletrônica semelhantes com *Brucella* spp. em queijo carbonizado e em relatos literários do uso de leite cru de ovinos<sup>129</sup>.

Apesar de haver registros arqueológicos, a primeira descrição da doença somente veio a ocorrer em 1861 pelo médico britânico Dr. Marston na República de Malta, quando tropas da Crimeia apresentavam febre alta, em estudo que possibilitou a distinção da febre tifoide<sup>130</sup>. Contudo, o isolamento da *Brucella* ocorreu em Malta no ano de 1887, pelo Dr. David Bruce, Dr. Caruana Scicluna e Dr<sup>a</sup>. Lady Bruce<sup>131</sup>.

Já o isolamento em animais, especificamente de tecidos fetais procedentes de abortos em bovinos, ocorreu em 1895, por Bernhard Bang que denominou a bactéria isolada como *Bacillus abortus*<sup>131</sup>.

A brucelose animal por *B.abortus* está associada à densidade do rebanho bovino<sup>132</sup>. Tais fatores são ainda mais importantes no Brasil, pois possui o maior rebanho bovino comercial do mundo<sup>133</sup> e onde ocorrem relatos na literatura de infecções naturais em seres humanos<sup>134</sup> e em outros animais<sup>135</sup>, fazendo com que desde 2001 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criasse o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT)<sup>136</sup>.

É considerada uma das zoonoses mais disseminadas e negligenciadas mundialmente, com incidência de 5 -12,5 milhões de casos humanos por ano, com maior predominância nos países asiáticos<sup>137</sup>. É uma zoonose subdiagnosticada, estimando-se que para cada caso de brucelose humana existem outros 25 casos que não são diagnosticados devido aos seus sinais inespecíficos<sup>138</sup>.

Relevante impacto também ocorre na saúde animal, pois de acordo com dados da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) no ano de 2018 na Argentina ocorreram 2232 focos, no Brasil 830 focos, no México 648 focos, na China 418 focos e na Itália 333 focos<sup>139</sup>. No ano de 2019 foram notificados 549 focos de brucelose animal no Brasil, apenas no primeiro semestre<sup>139</sup>.

As perdas econômicas com a brucelose animal advêm dos gastos com assistência veterinária, redução da produção de leite e carne, ocorrência de abortos e subfertilidade, mortalidade ou descarte de animais com alto valor zootécnico, sendo estimado um prejuízo total de \$ 448 milhões de dólares americanos para uma população de 212,797 milhões de bovinos no Brasil no ano de 2011<sup>140</sup>.

#### 2.4.3. Aspectos epidemiológicos

A brucelose animal por *B.abortus* é transmitida geralmente por contato dos animais com fômites e secreções de animais infectados, particularmente após aborto, podendo ainda ser veiculada por meio de pastagens ou alimentos de animais estabulados via ingestão<sup>141</sup>. Outros meios de transmissão incluem a via conjuntival, via cutânea (ferimentos), via inalatória e a via sexual, possuindo esta última menor relevância na transmissão, contudo deve-se ter cuidado na escolha de reprodutores, especialmente em animais sexualmente maduros<sup>141</sup>.

*B.abortus* pode sobreviver em locais abertos sob luz direta por até quatro horas e meia, em solo seco por quatro dias, em solo úmido por 66 dias, em solo frio por 185 dias, em restos placentários e fetais à sombra por 180 dias, em exsudato uterino por 200 dias, em fezes fluidas por 240 dias, em fezes expostas a altas temperaturas por dois dias e em água tratada por até 114

dias<sup>111</sup>. Em leite congelado pode durar mais de 800 dias, em queijos por mais de seis meses e em manteiga por até quatro meses e à cocção de 60° C por dez minutos<sup>111</sup>.

A brucelose humana por sua vez é adquirida geralmente pelo contato com animais infectados ou com suas secreções por meio da exposição ocupacional ou ambiental (médicos veterinários, magarefes ou trabalhadores rurais) ou por produtos derivados de leite não pasteurizado, sendo os bovinos, ovinos, caprinos e suínos os principais reservatórios <sup>141</sup>.

*B. abortus* se replica dentro das células do sistema retículo-endotelial onde permanece por tempo prolongado, contudo após a concepção *B. abortus* invade os trofoblastos e a glândula mamária, induzindo ao aborto ou sendo excretada no leite<sup>142</sup>. A placenta ou fetos contaminados se tornam a principal fonte de infecção para humanos e outros animais, além da ingestão de derivados de leite não pasteurizado<sup>142</sup>. Animais selvagens como o bisão podem manter *B. abortus* em ambiente selvagem, já o homem e equinos, por exemplo, são hospedeiros que não têm papel relevante na transmissão, sendo considerados hospedeiros “fim de linha” (Figura 11)

142

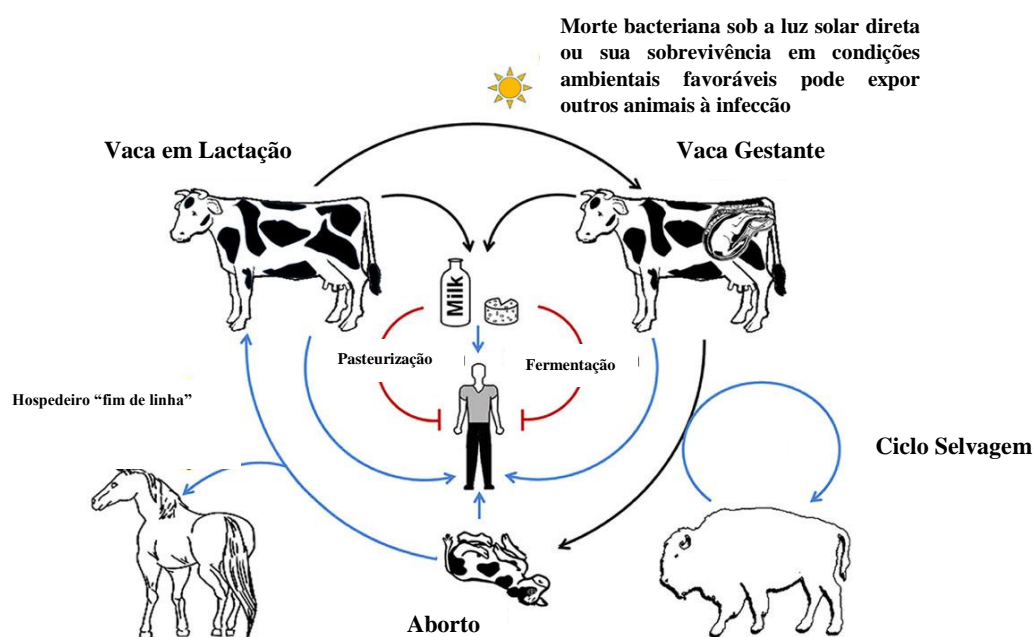


Figura 12 - Ciclo de *Brucella abortus* nos hospedeiros humanos e animais.  
Fonte: Adaptado de Moreno<sup>142</sup>.

Após a ingestão, que é a principal via de transmissão, *Brucella* spp. atinge o estômago enfrentando a primeira barreira química (pH do suco gástrico), e algumas espécies de *Brucella* spp. secretam a enzima urease que hidrolisa a ureia em carbamato e amônia. O carbamato por

sua vez é degradado por hidrólise espontânea em amônia e dióxido de carbono, produtos estes que basicam o meio, elevando o pH<sup>143</sup>.

Outras espécies como a *Brucella microti* convertem o ácido glutâmico em ácido gama amino butírico (GABA) consumindo um próton que alcaliniza o meio extracelular. Já no intestino, os sais biliares constituem outra barreira antimicrobiana que pode danificar a membrana de algumas bactérias, contudo *B.abortus* possui a enzima colilglicina hidrolase que catalisa a hidrólise dos sais biliares inibindo sua atividade microbicida<sup>143</sup>.

A barreira física da monocamada de células epiteliais do intestino constitui a última barreira, ainda não estando adequadamente esclarecido como *Brucella* spp. a atravessa<sup>143</sup>. Propõe-se que as células M (enterócitos especializados) expressam altamente a proteína prionica celular (Prpc) a qual é um receptor tendo um de seus ligantes a proteína Hsp60 secretada por *Brucella* spp., sugerindo uma interação a qual permite a entrada da bactéria no intestino<sup>143</sup>.

Durante a infecção, *B.abortus* invade as células hospedeiras, formando vacúolos que podem sofrer uma fusão com o lisossomo de forma controlada, ocorrendo nesta etapa degradação de 90% das brucelas<sup>144</sup>.

Os vacúolos contendo *B.abortus* trafegam intracelularmente, alcançando o retículo endoplasmático rugoso, onde estabelecem um local de replicação<sup>144</sup>. Após replicação no retículo endoplasmático os vacúolos contendo *Brucella* spp. são envoltos por membranas autofágicas deixando o espaço intracelular para em seguida se propagar em outras células (Figura 12)<sup>144</sup>.

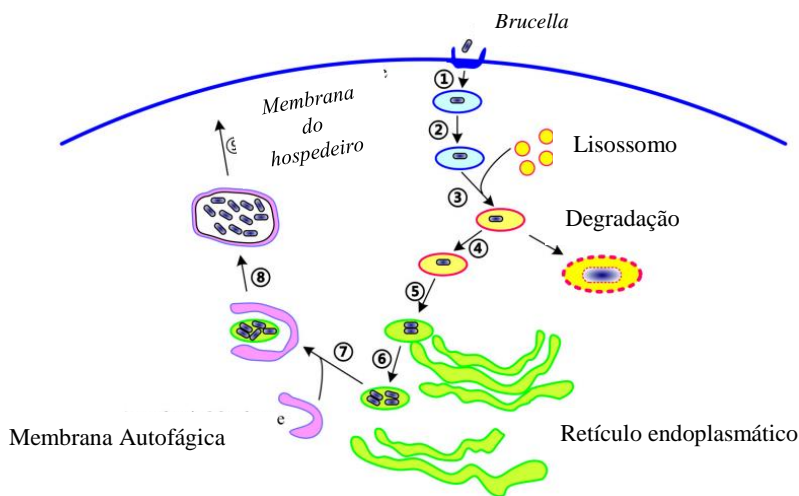


FIGURA 13 - Ciclo de vida de *Brucella* spp. nas células hospedeiras.  
Fonte: Ke et al.<sup>144</sup>.



#### 2.4.4. Diagnóstico

Embora os bovinos sejam os hospedeiros preferenciais de *B. abortus*<sup>115</sup>, outras espécies também podem ser infectadas<sup>145</sup>. Raros são os estudos que se dedicam à pesquisa sorológica e molecular de *B. abortus* em felinos domésticos e silvestres<sup>11</sup>. Após a infecção experimental em gatos por *B. canis* ocorre baixa taxa de soroconversão e discreta bacteremia, com poucos sinais clínicos evidentes, tais como esplenomegalia, linfadenomegalia e edema intersticial testicular<sup>146</sup>.

Na Coreia do Sul constatou-se um gato com diagnóstico positivo pela PCR para detecção do gênero *Brucella*<sup>10</sup>. No Irã foram constatados três gatos positivos para *B. abortus* pelo teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) e dois positivos no teste de 2-mercaptoetanol (2-ME) de um total de 140 amostras de gatos analisadas<sup>11</sup>.

O primeiro relato da infecção natural por *B. abortus* ocorreu em 2017 no Egito em uma fazenda de gado leiteiro, onde, após certificação como propriedade livre de brucelose, novos casos de casos de aborto em bovinos ressurgiram, constatando-se durante a investigação a presença de uma cadela com histórico de aborto recente e uma gata com piometra em contato dos bovinos e dos equipamentos de ordenha automática da propriedade<sup>9</sup> (Figura 9).



FIGURA 14 - Gatos ingerindo leite dentro da sala de ordenha automática de fazenda com bovinos, felinos e caninos infectados com *Brucella abortus* no Egito, 2017. Fonte: Wareth et al.<sup>9</sup>

Após essa constatação, amostras de sangue da gata e da cadela foram coletadas e submetidas ao diagnóstico sorológico, as quais resultaram em reações positivas aos testes de aglutinação<sup>9</sup>. Também se obteve êxito no isolamento a partir de amostras coletadas de secreção uterina dos mesmos animais, sendo caracterizadas pelo sequenciamento em *B. abortus* biovar 1<sup>9</sup>.

Estudos anteriores já demonstraram a presença de *B. abortus* em secreções urinárias, genitais, fecais e até mesmo fetos abortados de cães infectados<sup>147,148</sup>. Na Coreia do Sul já foi relatado o isolamento de *B. abortus* de descargas vaginais de cadelas por mais de 42 dias, demonstrando que animais de companhia podem vir a infectar as espécies animais as quais convivem no mesmo espaço<sup>147</sup>.

No Brasil, cão da raça boxer de sete anos procedente de propriedade rural foi diagnosticado com brucelose clínica e, embora o isolamento não tenha sido realizado, foi detectado o DNA de *B. abortus* em amostra de urina e sangue do animal<sup>135</sup>. Esses estudos demonstram que apenas a eliminação de gado soropositivo para *B. abortus* não necessariamente permite a erradicação da doença, pois outras espécies animais podem se envolver na manutenção do agente infeccioso em um rebanho bovino<sup>147,148</sup>.

As amostras de casos suspeitos de brucelose devem ser resfriadas (4-10°C) imediatamente após a colheita e transportadas aos laboratórios de referência o mais rápido possível e, nos casos em que o trânsito até o laboratório demorar mais que 12 horas, as amostras deverão ser mantidas em -20°C<sup>149</sup>.

Os métodos de diagnóstico podem ser classificados em diretos e indiretos, sendo os diretos aqueles nos quais pode ser realizada a identificação do agente e os indiretos são aqueles baseados em mecanismos do sistema imune que compreendem as reações antígeno-anticorpo<sup>150</sup>.

O isolamento de *Brucella* spp. é a prova definitiva de que o animal está infectado, contudo nem sempre é possível realizar o isolamento de animais infectados, pois laboratórios de referências podem não estar disponíveis na localidade, contudo pode ser utilizada a detecção de anticorpos ou uma reação de hipersensibilidade, o que fornece um diagnóstico provisório (pré-diagnóstico). Na prática é o meio mais viável e econômico de diagnóstico, tendo apenas a desvantagem dos testes serem susceptíveis a ter falsos positivos ou falso negativos e à reações vacinais<sup>141</sup>.

#### a) Testes Diretos

Os testes diretos compreendem o isolamento do agente, detecção de DNA de *B.abortus* e imunohistoquímica<sup>150</sup>, contudo estão sujeitos aos cuidados prévios das amostras antes, durante e após a colheita. As melhores categorias de amostras para os testes diretos são as secreções vaginais, fetos abortados (conteúdo estomacal, baço e pulmão), membranas fetais, leite (10-20 mL de cada teta), sêmem, líquidos sinoviais de articulações com inflamações (artrite), tecidos uterinos, úbere e linfonodos mamários, genitais ou da cabeça<sup>149</sup>.

Caso a amostra chegue em quantidade pequena ou se deseje melhorar a sensibilidade do isolamento pode ser realizada a inoculação intravenosa ou intraperitoneal em camundongos (*Mus musculus*) ou cobaias (*Cavia porcellus*)<sup>149</sup>. Nas situações nas quais a imunohistoquímica seja o teste escolhido deve ser realizada a fixação em solução de formol 10% ou formol tamponado<sup>150</sup>. O meio seletivo mais utilizado para o isolamento é o meio de Farrell modificado, meio de Thayer-Martin modificado, meio CITA e atmosfera de incubação contendo 5-10% de CO<sub>2</sub><sup>149</sup>.

#### b) Testes indiretos

##### b.1) Métodos de triagem

O teste de soroaglutinação com antígeno acidificado tamponado (AAT) se baseia na capacidade dos anticorpos IgM se ligarem a um antígeno em um reduzido pH, no qual gotas de antígeno corado com rosa de bengala são empregados (Figura 14)<sup>149</sup>. É um excelente teste de triagem, mas pode ser sensível a animais recentemente vacinados ou reações cruzadas, detectando principalmente IgG1<sup>150</sup>.

Também pode ser usado o teste do anel em leite, o qual pode ser aplicado em misturas de leite de vários animais com uma baixa concentração do antígeno (quatro por cento), sendo empregado mais comumente antígenos corados com hematoxilina, resultando na coloração azulada da reação positiva<sup>150</sup>.

##### b.2) Métodos confirmatórios

Podem ser empregados os métodos de soroaglutinação lenta em tubos (SAT), 2-mercaptoetanol (2-ME), fixação de complemento (FC) e polarização de fluorescência (FPA)<sup>150</sup>.

O método do 2-mercaptoetanol detecta unicamente a IgG, pois a IgM é degradada, sendo realizada concomitante ao teste de SAT, pois anticorpos vacinais e reações inespecíficas dão origem a resultados negativos no 2-ME e positivos no SAT, enquanto que resultados positivos em ambos os testes são indicativos de animais infectados<sup>150</sup>.

A sensibilidade e especificidade do FC são boas, mas é um método complexo para executar, exigindo boas instalações de laboratório e equipe treinada, tendo ainda a desvantagem do efeito “prozona” onde baixas diluições não fixam complemento, devido à presença de altos níveis de isotipos de anticorpos fixadores não complementares<sup>149</sup>.

O teste de FPA se baseia na comparação da velocidade dos movimentos moleculares em solução, onde o tamanho molecular influencia a rotação, sendo inversamente proporcional, e havendo a presença de complexos antígeno-anticorpo a velocidade de rotação será menor do que o antígeno polissacarídeo “O” conjugado com fluoresceína sozinho<sup>150</sup>.

#### 2.4.5. Profilaxia

A prevenção para brucelose, assim como para outras doenças, deve incluir a educação em saúde, que constitui ferramenta eficaz, particularmente no que diz respeito aos costumes e à utilização de equipamentos de proteção individual<sup>151</sup>.

Deve ser realizada como prevenção a educação sanitária dos profissionais, que inclui utilização de equipamentos de proteção individual, como luvas e vestimentas apropriadas no manuseio de animais suspeitos, desinfecção de utensílios, cuidados no uso da vacina atenuada, destino correto de abortos, placentas e anexos fetais de animais domésticos, pasteurização de produtos lácteos, eutanásia dos animais infectados e vacinação de animais jovens<sup>152</sup>.

Segundo Zapata<sup>153</sup>, podem ser usadas também como medidas de prevenção a avaliação sorológica periódica de trabalhadores em risco, a atenção dos profissionais do grupo de risco para evitar aerossolização como: cuidado ao aspirar líquidos com seringa, manusear equipamentos de agitação ou rotação, e evitar limpar ambientes frequentados por animais com jatos de ar ou água com alta pressão, cuidados para evitar acidentes do tipo derrame e aerossolização na manipulação de culturas.

Deve ser ressaltado que toda e qualquer medida de prevenção que reduza a infecção animal, reduz o risco de infecção humana, pois o homem não é reservatório natural de *Brucella*, e a infecção se mantém apenas em populações animais, portanto são muito importantes os programas de controle da brucelose animal para prevenir a ocorrência de casos humanos<sup>154</sup>.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

- Determinar a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp., anti-*Toxoplasma gondii*, anti-*Neospora* spp. e anti-*Brucella abortus*, detectar o DNA de *Cytauxzoon felis* em gatos no município de Araguaína (Tocantins) e avaliar potenciais fatores de risco associados à soropositividade para os patógenos estudados.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Investigar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. por meio da soroaglutinação microscópica em gatos de Araguaína-TO;
- Investigar a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* por meio da reação de imunofluorescência indireta em gatos de Araguaína-TO;
- Investigar a presença de anticorpos anti-*Neospora* spp. por meio da reação de imunofluorescência indireta em gatos de Araguaína-TO;
- Investigar a presença de anticorpos anti-*Brucella abortus* em gatos de Araguaína-TO por meio da reação do antígeno acidificado tamponado como triagem, seguido da confirmação pelo teste de 2-mercaptoetanol;
- Avaliar a associação entre idade, sexo, raça, procedência e presença de sinais clínicos com a sororreatividade para *Leptospira* spp., *Brucella abortus*, *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii* em gatos de Araguaína-TO;
- Detectar a presença de DNA de *Cytauxzoon felis* em gatos de Araguaína-TO por meio da Reação em Cadeia de Polimerase Convencional.

#### 4. REFERÊNCIAS

1. Brasil. Pesquisa nacional de saúde: acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências: Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2015. 100 p.
2. Abinpet. Associação Brasileira de Indústrias de Produtos para Animais de Estimação. Mercado Pet no Brasil. São Paulo: Abinpet, 2019. [Acesso em: 9 dez 2019]. Disponível em: [http:// http://abinpet.org.br/download/abinpet\\_folder\\_2018\\_d9.pdf](http://http://abinpet.org.br/download/abinpet_folder_2018_d9.pdf)
3. Carvalho RLS, Pessanha LDR. Relação entre famílias, animais de estimação, afetividade e consumo: estudo realizado em bairros do Rio de Janeiro. *Sociais e Hum.* 2013; 26(3): 622-37.
4. Potter A, Mills DS. Domestic cats (*Felis silvestris catus*) do not show signs of secure attachment to their owners. *PLoS One.* 2015; 10(9): 1-17.
5. Schneider MC, Aguilera XP, Smith RM, Moynihan MJ, Silva-Junior JB, Aldighieri S, Almiron M. Importance of animal/human health interface in potential Public Health Emergencies of International Concern in the Americas. *Rev Panam Salud Publ.* 2011; 29(3): 371-79.
6. Cardoso TAO, Navarro MBMA, Soares BEC, Tapajós AM. Biosseguridade e biossegurança: aplicabilidades da segurança biológica. *Interciência.* 2008; 33(8): 561-68.
7. Dupouey J, Faucher B, Edouard S, Richet H, Kodjo A, Drancourt M, Davoust B. Human leptospirosis: an emerging risk in Europe?. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2014; 37(1): 77-83.
8. Arbour J; Blais MC, Carioto L, Sylvestre D. Clinical Leptospirosis in Three Cats (2001–2009). *J Am Anim Hosp Assoc.* 2012; 48(4): 256-60.
9. Wareth G, Melzer F, El-Diasty M, Schmoock G, Elbauomy E, Abdel-Hamid N, Sayour A, Neubauer H. Isolation of *Brucella abortus* from a dog and a cat confirms their biological role in re-emergence and dissemination of bovine brucellosis on dairy farms. *Transboundary Emerg Dis.* 2017; 64(5): 27-30.
10. Truong LQ, Kim JT, Yoon B, Her M, Jung SC, Hahn T. Epidemiological survey for *Brucella* in wildlife and stray dogs, a cat and rodents captured on farms. *J Vet Med Sci.* 2011; 73(12): 1597-601.
11. Garoussi MT, Mehrzad J, Baniassadi A, Khoshnegah j. Seroprevalence of brucellosis in different kinds of feline population in north-east of Iran. *Comp Clin Path.* 2018 27: 1155-160.
12. Dubey JP, Lindsay DS, Lipscomb TP. Neosporosis in cats. *Vet Pathol.* 1990; 7(5): 335-39.
13. Calero-Bernal R, Gennari SM. Clinical toxoplasmosis in dogs and cats: an update. *Front Vet Sci.* 2019; 6: 1-9.
14. Fialho CG, Teixeira MC, Araújo FAP. Toxoplasmose animal no Brasil. *Acta Sci Vet.* 2009; 37(1): 1-23.

15. Tarigo JL, Kelly LS, Brown HM, Peterson DS. Limited genetic variability of *Cytauxzoon felis* apical membrane antigen-1 (ama1) from domestic cats and bobcats. *Parasit Vectors*. 2019; 12(1): 115.
16. Schreeg ME, Marr HS, Tarigo JL, Sherrill MK, Outi HK, Scholl EH, Bird DM, Vigil A, Hung C, Nakajima R, Liagn L, Trieu A, Doolan DL, Thomas JE, Levy MG, Reichard MV, Felgner PL, Cohn LA, Birkenheuer AJ. Identification of *Cytauxzoon felis* antigens via protein microarray and assessment of expression library immunization against cytauxzoonosis. *Clin Proteom*. 2018; 15:1-17.
17. Driscoll CA, Menotti-Raymond M, Roca AL, Hupe K, Johnson WE, Geffen E, Harley EH, Delibes M, Pontier D, Kitchener AC, Yamaguchi N, O'Brien EJ, Macdonald DW. The Near Eastern origin of cat domestication. *Science*. 2007; 317(5837): 519-523.
18. Lipinski MJ, Froenicke L, Baysac KC, Billings NC, Leutenegger CM, Levy AM, Longeri M, Niini T, Ozpinar H, Slater MR, Pedersen NC, Lyons LA. The ascent of cat breeds: genetic evaluations of breeds and worldwide random-bred populations. *Genomics*. 2008; 91(1): 12-21.
19. World Health Organization (OMS). Guidelines for dog population management. Geneva: World Health Organization; 1990. 116p.
20. Canatto BD, Silva EA, Bernardi F, Mendes MCNC, Paranhos NT, Dias RA. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2012; 64 (6): 1515-523.
21. Elmore SA, Jones JL, Conrad PA, Patton S, Lindsay DS, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends Parasitol*. 2010; 26: 190-96.
22. Arisue N, Hashimoto T. Phylogeny and evolution of apicoplasts and apicomplexan parasites. *Parasitol Int*. 2015; 64(3): 254-59.
23. Levine ND, Corliss JO, Cox FE, 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.
24. Blackman MJ, Bannister LH. Apical organelles of Apicomplexa: biology and isolation by subcellular fractionation. *Mol Biochem Parasit*. 2001; 117(1): 11-25.
25. Dubremetz JF, Garcia-Réguet N, Conseil V, Fourmaux MN. Apical organelles and host-cell invasion by Apicomplexa. *Int J Parasitol*. 1998; 28(7): 1007-013.
26. Ajioka JW, Fitzpatrick JM, Reitter CP. *Toxoplasma gondii* genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. *Expert Rev Molecular Med*. 2001; 1: 1-19.
27. Dardé ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol*. 1992; 78(5): 786-94.
28. Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis*. 1995; 172(6): 1561-566.

29. Khan A, Dubey JP, Su C, Ajioka JW, Rosenthal BM, Sibley LD. Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America. *Int J Parasitol.* 2011; 41(6): 645-55.
30. Rajendran C, Su C, Dubey JP. Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* from Central and South America revealed high diversity within and between populations. *Infect Genet Evol.* 2012; 12(2): 359-68.
31. Ragozo AMA, Pena HFJ, Yai LEO, Su C, Gennari SM. Genetic diversity among *Toxoplasma gondii* isolates of small ruminants from Brazil: novel genotypes revealed. *Vet Parasitol.* 2010; 170(3-4): 307-12.
32. Melo Ferreira A; Vitor RWA, Gazzinelli RT, Melo MN. Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Infect Genet Evol.* 2006; 6(1): 22-31.
33. Pena HF, Gennari SM, Dubey JP, Su C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *Int J Parasitol.* 2008; 38(5): 561-69.
34. Dardé ML. *Toxoplasma gondii*, “new” genotypes and virulence. *Parasite.* 2008; 15: 366-71.
35. Dubey JP. *Toxoplasmosis of animals and humans.* 2. ed. Boca Raton: CRC Press; 2010. 338 p.
36. Sibley LD, Boothroyd JC. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature.* 1992; 359: 82-5.
37. Su C, Khan A, Zhou P, Majumdar D, Ajzenberg D, Dardé ML, Zhu XQ, Ajioka JW, Rosenthal BM, Dubey JP, Sibley LD. Globally diverse *Toxoplasma gondii* isolates comprise six major clades originating from a small number of distinct ancestral lineages *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(15): 5844-849.
38. Shwab EK, Zhu XQ, Majumdar D, Pena HF, Gennari SM, Dubey JP, Su C. Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping. *Parasitol.* 2014; 141(4): 453-61.
39. Splendore A. Uri nuovo protozoa parassita dei conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d’una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell’uomo. Nota preliminare. *Revista da Sociedade Científica de São Paulo.* 1908; 3: 109-12.
40. Nicolle C, Manceaux L. Su rune infection à cops de Leishman (ou organismes voisins) du gondii. *Compte Rendus Hebdomadaires des Séances de l’Académie des Sciences. Série D: Sciences naturelles.* 1908; 147: 763-76.
41. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect.* 2002; 8: 634-40.
42. Kravetz JD, Federman DG. Toxoplasmosis in pregnancy. *Am J Med.* 2005; 118: 212-18.
43. Almeida MJ, Oliveira LHH, Freire RL, Navarro IT. Aspectos sociopolíticos da epidemia de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí (PR). *Cien Saude Colet.* 2011; 16(supl. 1): 1363-373.



44. Minuzzi CE, Portella LP, Braunig P, Sangioni LA, Ludwig A, Ramos LS, Pacheco L, Silva CR, Pacheco FC, Menegolla IA, Farinha LB, Kist PP, Breganó RM, Nino BSL, Martins FDC, Monica TC, Ferreira FP, Britto I, Signori A, Medici KC, Freire RL, Garcia JL, Navarro IT, Difante CM, Vogel FSF. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from placental tissues of pregnant women who received toxoplasmosis treatment during an outbreak in southern Brazil. PLoS One. 2020; 15(1): 1-7.
45. Silva AV, Cunha ELP, Meireles LR, Gottschalk S, Mota RA, Langoni H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. Cienc Rural. 2003; 33(1): 115-119.
46. Millar PR, Sobreiro LG, Bonna ICF, Amendoeira MRR. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. Semina: Ciênc Agrár. 2008; 29(3): 693-706.
47. Pena HFJ, Evangelista CM, Casagrande RA, Biezus G, Wisser CS, Ferian PE, Moura AB, Rolim VM, Driemeier D, Oliveira S, Alves BF, Gennari SM, Traverso SD. Fatal toxoplasmosis in an immunosuppressed domestic cat from Brazil caused by *Toxoplasma gondii* clonal type I. Rev Bras Parasitol Vet. 2017; 26(2): 177-84.
48. Nagel SS, Williams JH, Schoeman JP. Fatal disseminated toxoplasmosis in an immunocompetent cat. J S Afr Vet Assoc. 2013; 84(1): 1-6.
49. Hartmann K, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Möstl K, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. *Toxoplasma gondii* infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. J Feline Med Surg. 2013; 15(7): 631-37.
50. Lukesova D, Literak I. Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic. Vet Parasitol. 1998; 74(1):1-7.
51. Miller MA, Miller WA, Conrad PA, James ER, Melli AC, Leutenegger CM, Dabritz HA, Packham AE, Paradies D, Harris M, Ames J, Jessup DA, Worcester K, Grigg ME. Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, runoff and toxoplasmosis of sea otters. Int J Parasitol. 2008; 38(11): 1319-28.
52. 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(2): 205-315
53. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000; 30(12-13): 1217-258.
54. Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. Int J Parasitol. 2008; 38(11): 1257- 278.
55. Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol. 1998; 28: 1019-24.
56. Chiebao DP. Diversidade genética de *Toxoplasma gondii*. Pesquisa & Tecnologia. 2016; 13(1): 1-7.

57. Martorelli Di Genova B, Wilson SK, Dubey JP, Knoll LJ. Intestinal delta-6-desaturase activity determines host range for *Toxoplasma* sexual reproduction. PLoS Biology. 2019; 17(8): 1-19.
58. Zulpo DL, Sammi AS, Dos Santos JR, Sasse JP, Martins TA, Minutti AF, Cardim, ST, De Barros LD, Navarro IT, Garcia JL. *Toxoplasma gondii*: A study of oocyst re-shedding in domestic cats. Vet Parasitol. 2018; 249: 17-20.
59. Dubey JP. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. J Parasitol. 1995; 81(3): 410-15.
60. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev. 1998. 11(2): 267-69.
61. Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*-the first 100 years. J Eukaryot Microbiol. 2008; 55(6): 467-75.
62. Prandovszky E, Gaskell E, Martin H, Dubey JP, Webster JP, McConkey GA. The neurotropic parasite *Toxoplasma Gondii* increases dopamine metabolism. PLoS One. 2011; 6 (9): 1-9.
63. Costa RC, Jayme VS, Linhares GFC, Silveira-Neto OS, Queiroz TD. Infecção pelo *Toxoplasma gondii* e pelo vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos (*Felis catus*). Enciclopédia Biosfera. 2015; 11(22): 1994-2014.
64. Bastos BF, Brener B, Gershony L, Willi L, Labarthe N, Pereira C, Almeida FM. Seroprevalence of *Toxoplasma Gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) and retroviral status of client-owned pet cats (*Felis Catus*, Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2014; 56(3): 201-03.
65. Mitsuka-Breganó R, Lopes-Mori FMR, Navarro IT. Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas. Londrina: Editora da Universidade Estadual de Londrina; 2010. 62 p.
66. Semango G, Hamilyon CM, Kreppel K, Katzer F, Kibona T, Lankester F, Allan KJ, Thomas KM, Claxton JR, Innes EA, Swai ES, Buza J, Cleaveland S, Glanville WA. The Sero-epidemiology of *Neospora caninum* in cattle in Northern Tanzania. Front Vet Sci. 2019; 6: 1-11.
67. Silva LS, Almeida ARG, Pinto Neto A, Martinez AC. Neosporosis and its epidemiology: a review. Sci Electron Arch. 2019; 12(2): 145-154.
68. Cruz I, Vinhas AR, Dubey JP, Cardoso L, Cotovio M, Lopes AP. First report of antibodies to *Neospora* spp. in horses from Portugal. Rev Bras Parasitol Vet. 2019; 28(1): 161-63.
69. Dubey JP, Hemphill A, Calero-Bernal R, Schares G. *Neosporosis in animals*. Boca Raton: CRC Press; 2017. 548 p.
70. Marugan-Hernández V. *Neospora caninum* and bovine neosporosis: current vaccine research. J Comp Pathol. 2017; 157(2-3):193-200.

71. Cerqueira-Cézar CK, Calero-Bernal R, Dubey JP, Gennari SM. All about neosporosis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2017; 26(3): 253-79.
72. Cadora GC, Vogel FSF, Flores EF, Sangioni LA, Camillo G. Suscetibilidade de linhagens celulares e cultivos primários ao *Neospora caninum*. *Cienc Rural.* 2009; 39(5): 1581-1585.
73. Lindsay DS, Dubey JP. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). *J Parasitol.* 1990; 76(3): 410-413.
74. Bjerkås I, Mohn SF, Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitsch rift Fuer Parasitenkunde.* 1984; 70(2): 271-74.
75. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1988; 192: 1269-285.
76. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc.* 1988; 193(10): 1259-263.
77. Thilsted JP, Dubey JP. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest.* 1989; 1: 205-09.
78. McAllister MM1, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 1998; 28(9):1473-478.
79. Gondim LFP, Sartor IF, Monteiro LA Jr, Haritani M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. *N Z Vet J.* 1999; 47(1): 35.
80. Gondim LFP, Pinheiro AM, Santos POM, Jesus EEV, Ribeiro MB, Fernandes HS, Almeida MA, Freire SM, Meyer R, McAllister MM. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Vet Parasitol.* 2001; 101(1): 1-7.
81. Millar PR, Sobreiro LG, Bonna ICF, Amendoeira MRR. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. *Semina: Ciênc Agrár.* 2008; 29(3): 693-706.
82. Paz GS, Colhado BS, Anton MM, Rocha KS, Silva DB, Moraes CCG, Lucheis SB, Langoni H. Infecção por *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Leishmania major* e *Trypanosoma cruzi* em cães do estado do Pará. *Ciênc An Brasil.* 2019; 20: 1-10.
83. Reichel MP, Ayanegui-Alcérreca A, Gondim LF, Elliis JT. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - the billion dollar question. *Internat J Parasitol.* 2013; 43(2): 133-42
84. Dantas SBA, Fernandes ARF, Souza Neto OL, Mota RA, Alves CJ, Azevedo SS. Ocorrência e fatores de risco associados às infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães no município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. *Cienc Rural.* 2013; 43(11): 2042-048.

85. King JS, Slapeta J, Jenkins DJ, Al-Qassab SE, Ellis JT, Windsor PA. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 2010; 40(8): 945-50.
86. Dubey JP, Jenkins MC, Rajendran C, Miska K, Ferreira LR, Martins J, Kwok OC, Choudhary S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.* 2011; 181(2-4): 382-87.
87. Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 2004; 34(2): 159-61.
88. Guimarães-Júnior JS, Romanelli PR. Neosporosis in domestic animals. *Semina: Ciênc Agrár.* 2006; 27(4): 665-78.
89. Goodswen SJ, Kennedy PJ, Ellis JT. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present. *Infect Genetic Evol;* 2013; 13: 133-50.
90. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.* 1999; 82(4): 327-33.
91. Dubey JP. Neosporosis – the first decade of research. *Int J Parasitol.* 1999; 29: 1485-488.
92. Devens BA. Neosporose canina: biologia, etiologia, sinais clínicos, diagnóstico e controle. *Pubvet.* 2010; 4(40): 1-13.
93. Dubey JP, Lindsay DS. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J Parasitol.* 1989; 75(5): 765-71.
94. Mcallister MM, Jolley WR, Wills RA, Lindsay DS, Mcguire AM, Tranas JD. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Am J Vet Res.* 1998; 59(4): 441-44.
95. Dubey JP, Lindsay DS, Lipscomb TP. Neosporosis in cats. *Vet Pathol.* 1990; 7(5): 335-39.
96. Andreotti R, Matos MFC, Oliveira JM, Locattelli-Dittrich R. Teste sorológico de imunofluorescência indireta para diagnóstico da neosporose em bovinos. *Comunicado Técnico-Embrapa Campo Grande.* 2004; 86: 1-5.
97. Björkman C, Alvarez-Garcia G, Conraths FJ, Mattsson JG, Ortega-Mora LM, Sager H, Schares G. *Neospora caninum* IgG avidity tests: an interlaboratory comparison. *Vet Parasitol.* 2006; 140(3-4): 273-80.
98. Sasai K, Lillehoj HS, Hemphill A, Matsuda H, Hanioka Y, Fukata T, Baba E, Arakawa A. A chicken anti-conoid monoclonal antibody identifies a common epitope which is present on motile stages of *Eimeria*, *Neospora* and *Toxoplasma*. *J Parasitol.* 1998; 84: 654-56.
99. Gondim LF, Lindsay DS, Mcallister MM. Canine and bovine *Neospora caninum* control sera examined for cross-reactivity using *Neospora caninum* and *Neospora hughesi* indirect fluorescent antibody tests. *J Parasitol.* 2009; 95(1): 86-8.
100. Ciaramella P, Corona M, Cortese L, Piantedosi D, Santoro D, Loria AD, Rigato R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Vet Parasitol.* 2004; 123(1-2): 11-5.

101. Fehlberg HF, Maciel BM, Albuquerque GR. Identification and discrimination of *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp., *Neospora* spp., and *Cryptosporidium* spp. by high-resolution melting analysis. PLoS One 2017; 12(3): 1-10.
102. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet Parasitol. 1996; 67(1-2): 1-59.
103. Dubey JP, Dorrough KR, Jenkins MC, Liddell S, Speer CA, Kwow OCH, Shen SK. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. Int J Parasitol. 1998; 28 (8): 1293-304.
104. Mann TR. Neosporose cutânea em canino – relato de caso. [Monografia]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2015.
105. Slapeta JR, Koudela B, Votýpka J, Modrý D, Horejs R, Lukes J. Coprodiagnosis of *Hammondia heydorni* in dogs by PCR based amplification of ITS 1 rRNA: differentiation from morphologically indistinguishable oocysts of *Neospora caninum*. Vet J. 2002; 163(2): 147-54.
106. Gondim LFP, Mcallister MM, Gao L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. Vet Parasitol. 2005; 134(1-2): 33-9.
107. Hosseinabadi A, Korani M, Esmaili D. In Silico Analysis *Brucella* OMPs and CagA for Expansion of a Subunit Vaccine Candidate Versus Brucellosis. Int J Med Rev. 2019; 6(1): 14-20.
108. Cossaboom CM, Kharod GA, Salzer JS, Tiller RV, Campbell LP, Wu K, Negrón ME, Ayala N, Evert N, Radowicz J, Shuford J, Stonecipher S. Notes from the Field: *Brucella abortus* Vaccine strain rb51 infection and exposures associated with raw milk consumption - Wise County, Texas, 2017. Morb Mortal Wkly Rep. 2018; 67(9): 286.
109. Vicente AF, Antunes JMAP, Lara GHB, Mioni MSR, Allendorf SD, Peres MG, Appolinário CM, Listoni FJP, Ribeiro MG, Megid J. Evaluation of three formulations of culture media for isolation of *Brucella* spp. regarding their ability to inhibit the growth of contaminating organisms. Biomed Res Int. 2014; 2014: 1-3.
110. Nardi Júnior G, Megid J, Vicente AF, Listoni FJP, Monteiro FM, Lara GHB, Motta RG, Chacur MGM, Ribeiro MG. Comparison of *Brucella* agar, CITA and Farrell media for selective isolation of *Brucella abortus* from semen of bovine bulls. Afr J Microbiol Res. 2015; 9(9): 617-20.
111. Paraná. Protocolo de manejo clínico e vigilância em saúde para brucelose humana no Estado do Paraná. Curitiba: Secretaria de Estado da Saúde do Paraná; 2015. 70 p.
112. Zhao Y, Hanniffy S, Arce-Gorvel V, Conde-Alvarez R, Oh S, Moriyón I, Mémet S, Gorvel JP. Immunomodulatory properties of *Brucella melitensis* lipopolysaccharide determinants on mouse dendritic cells *in vitro* and *in vivo*. Virulence. 2018; 9(1): 465-79.
113. Ducrotoy MJ, Conde-Álvarez R, Blasco JM, Moriyón I. A review of the basis of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis. Vet Immunol Immunopathol. 2016; 171: 81-102.

114. Carvalho Neta AV, Mol JPS, Xavier MN, Paixão TA, Lage AP, Santos RL. Pathogenesis of bovine brucellosis. *Vet. J.* 2010; 184(2): 146-55.
115. Carvalho RFB, Santos HP, Mathias LA, Pereira HM, Paixão AP, Costa Filho VM, Alves LMC. Frequência de brucelose bovina em rebanhos leiteiros e em seres humanos na região central do estado do Maranhão, Brasil. *Arqu Inst Biol.* 2016; 83: 1-6.
116. Rosa DC, Garcia KCOD, Megid J. Soropositividade para brucelose em suínos em abatedouros. *Pesq Vet Bras.* 2012; 32(7): 623-26.
117. Guzmán-Verri C, González-Barrientos R, Hernández-Mora G, Morales JA, Baquero-Calvo E, Chaves-Olarte E, Moreno E. *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Front Cellular Infect Microbiol.* 2012; 2: 1-22.
118. Scholz HC, Nockler K, Gollner C, Bahn P, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Kampfer P, Cloeckert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Pfeffer M, Huber B, Busse HJ, De Kumar B. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int J Syst Evol Micr.* 2010; 60(4): 801-08.
119. De Massis F, Zilli K, Di Donato G, Nuvoloni R, Pelini S, Sacchini L, D'Alterio N, Di Giannatale E. Distribution of *Brucella* field strains isolated from livestock, wildlife populations, and humans in Italy from 2007 to 2015. *PLoS One.* 2019; 14(3): 1-16.
120. Ouahrani-Bettache S, De Bagüés MPJ, De La Garza J, Freddi L, Bueso JP, Lyonnais S, Al Dahouk S, De Biase D, Köhler S, Occhialini A. Lethality of *Brucella microti* in a murine model of infection depends on the wbkE gene involved in Opolysaccharide synthesis. *Virulence.* 2019; 10(1): 868-78.
121. Scholz HC, Revilla-Fernández S, Dahouk S, Hammerl JA, Zygmunt MS, Cloeckert A, Koylass M, Whatmore AM, Blom J, Vergnaud G, Witte A, Aistleitner K, Hofer E. *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*vulpes vulpes*). *Int J Syst Evol Micr.* 2016; 66(5): 2090-098.
122. Villalobos-Vindas JM, Amuy E, Barquero-Calvo E, Rojas N, Chacóndíaz C, Chaves-Olarte E, Guzman-Verri C, Moreno E. Brucellosis caused by the wood rat pathogen *Brucella neotomae*: Two case reports. *J Med Case Rep.* 2017; 11(1): 1-4.
123. Whatmore AM, Davison N, Cloeckert A, Al Dahouk S, Zygmunt MS, Brew SD, Perrett LL, Koylass MS, Vergnaud G, Quance C, Scholz H, Dick Jr EJ, Hubbard G, Schlabritz-Loutsevitch NE. *Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.). *Int J Syst Evol Micr.* 2014; 64(12): 4120-128.
124. Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckert A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Micr.* 2007; 57(11): 2688-693.
125. Stranahan LW, Khalaf OH, Garcia-Gonzalez DG, Arenas-Gamboa AM. Characterization of *Brucella canis* infection in mice. *PLoS One.* 2019; 14 (6): 1-19.
126. Costa LF, Pessoa MS, Guimarães LB, Faria AKS, Morão RP, Mol JPS, Garcia LNN, Almeida AC, Gouveia AMG, Silva MX, Paixão TA, Santos RL. Serologic and molecular

evidence of *Brucella ovis* infection in ovine and caprine flocks in the State of Minas Gerais, Brazil. BMC Res Not. 2016; 9: 1-5.

127. Mussi JMS. Efeito do antagonismo *in vitro* de bactérias ácido-láticas e da maturação na sobrevivência de *Brucella abortus* em queijos tipo minas artesanal. [Tese]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2018.

128. D'anastasio R, Staniscia T, Milia ML, Manzoli L, Capasso L. Origin, evolution and paleoepidemiology of brucellosis. Epidemiol Infect. 2011; 139(1): 149-56.

129. Capasso L. Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epizoonoses in Roman populations. J Infect. 2002; 45(2): 122-27.

130. Wyatt HV. Lessons from the History of Brucellosis. J Malt Hist. 2016; 5(1): 75-84.

131. Nicoletti P. A short history of brucellosis. Vet Microbiol. 2002; 90(1-4): 5-9.

132. Lawinsky MLJ, Ohara PM, Elkhoury MR, Faria NC, Cavalcante KRLJ. Estado da arte da brucelose em humanos. Rev Pan-Amaz Saude. 2010; 1(4): 75-84.

133. Vale P, Gibbs H, Vale R, Christie M, Florence E, Munger J, Sabaini D. The Expansion of Intensive Beef Farming to the Brazilian Amazon. Global Environ Chang. 2019; 57: 1-11.

134. Lemos TS, Cequinel JC, Costa TP, Navarro AB, Sprada A, Shibata FK, Gondolfo R, Tuon FF. Outbreak of human brucellosis in Southern Brazil and historical review of data from 2009 to 2018. Plos Neglect Trop D. 2018; 12(9): 1-12.

135. Megid J, Salgado VR, Keid LB, Siqueira AK, Meirelles CE, Moretti DM. Infecção em cão por *Brucella abortus*: relato de caso. Arq Bras Med Vet Zoot. 2007; 59(6): 1583-585.

136. Mota ALAL, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Dias RA, Amaku M, Grisi-Filho JHH, Telles EO, Picão Gonçalves VS. Large-scale study of herd-level risk factors for bovine brucellosis in Brazil. Acta Trop. 2016; 164: 226-32.

137. Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. Infect Ecol Epidemiol. 2018; 8(1): 1-12.

138. Ferreira CR, Ferreira CR, Tatagiba TA, Souto Filho JTD. Espondilodiscite brucelósica: relato de caso. Rev Soc Bras Med Trop. 2002; 35(3): 255-58.

139. World Organization for Animal Health (OIE). Information Zoosanitaire. Disease Information. Detailed country (ies) disease incidence. [Internet]. Paris: World Organization for Animal Health; 2020 [Acesso em: 05 jan 2020], Disponível em: [https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail)

140. Santos RL, Martins TM, Borges AM, Paixão TA. Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. Pesq Vet Bras. 2013; 33(6): 759-64.

141. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. Genebra: World Health Organization; 2006. 89 p.

142. Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Front Microbiol.* 2014; 5: 1-18.
143. Rubén López-Santiago, Ana Beatriz Sánchez-Argáez, Liliana Gabriela De Alba-Núñez. Shantal Lizbeth Baltierra-Uribe, Martha Cecilia Moreno-Lafont. Immune response to mucosal *Brucella* infection. *Front Immunol.* 2019; 10: 1-21.
144. Ke Y, Wang Y, Li W, Chen Z. Type IV secretion system of *Brucella* spp. and its effectors. *Front Cel Infect Microbiol.* 2015; 5: 1-10.
145. Dorneles SEM, Santos HD, Nascimento Rocha JM, Minharro S, Mathias LA, Dasso MG, Tiensoli CD, Heinneman MB, Lage AP. Antibodies anti-*Brucella canis* and anti-*Brucella abortus* in dogs from Araguaína, Tocantins, Brazil. *Braz. J Vet Res Anim Sci.* 2011; 48(2): 167-71.
146. Tolari F, Farina R, Arispic M, Orsi R. Brucellosis in the Cat. *Annali Scavo; rivista di microbiologia e di immunologia.* 1982; 24(6): 577-85.
147. Baek BK, Lim CW, Rahman MS, Kim CH, Oluoch A, Kakoma I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. *Can J Vet Res.* 2003; 67(4): 312-14.
148. Forbes LB. *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1990; 196(6): 911- 16.
149. World Organization for Animal Health (OIE). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals - Chapter 3.1.4. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) (infection with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*). [Internet]. Paris: World Organization for Animal Health; 2019 [Acesso em: 05 jan 2020], Disponível em: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.04\\_BRUCELLOSIS.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELLOSIS.pdf)
150. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal 1ª Edição. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2006. 188 p.
151. Mello CCF, Souza DU, Glória FAC, Moura LO, Mello GCF. Espondilodiscite por brucelose: relato de caso. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007; 40(4): 469-72.
152. Riet-Correa F, Schild AL, Méndez MC, Lemos RAA. Doenças de ruminantes e equinos – Volume 1. São Paulo: Varela; 2001. 425 p.
153. Zapata MR, Santos JS, Martínez LS, Soto MA. Brucellosis. Aspectos patogénicos. Clínica, diagnóstico y tratamiento. Formas específicas de enfermedad. *Medicine.* 1998; 79: 3651-658.
154. Mathias LA. Brucelose Animal e suas implicações em saúde pública. *Biol.* 2008; 70: 47-8.



## CAPÍTULO 2 – FATORES ASSOCIADOS E PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. EM GATOS (*Felis silvestris catus*) DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS, BRASIL

### Resumo

*Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. são patógenos cosmopolitas que possuem impacto relevante em saúde animal. O objetivo com o desenvolvimento do presente estudo foi investigar a presença de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e contra *Neospora* spp. Amostras de soro de colhidas por meio de flebocentese das veias cefálicas e jugulares de 180 gatos do município de Araguaína (Tocantins) foram avaliadas para verificar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*Neospora* spp. por meio da técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) utilizando o ponto de corte de 1:64 e 1:25 respectivamente. Foi avaliada a associação entre cinco variáveis epidemiológicas (faixa etária, sexo, procedência, raça e sinais clínicos) e o risco de infecção para os micro-organismos estudados pelo método de chi-quadrado com correção de Yates e *odds ratio*. Constatou-se prevalência de 48,3% (87/180) de animais com presença de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* (IC95%: 40,8-55,90%) e 3,9% (7/180) contra *Neospora* spp. (IC95%: 1,6-7,8%). Há a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* e *Neospora* spp. na população felina e existe associação estatisticamente significativa das variáveis sinais clínicos e raça com a sororreatividade para *T.gondii* e da variável raça com a sororreatividade para *Neospora* spp. A exposição da população felina aos patógenos estudados indica a necessidade da aplicação de medidas sanitárias efetivas contra tais patógenos, particularmente em relação a *T. gondii* devido à sua importância em saúde pública.

Palavras-chave: felinos, neosporose, saúde pública, toxoplasmose.

### Abstract

*Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. are cosmopolitan pathogens that have a relevant impact on animal health. The objective with the development of this study was to investigate the presence of attacks against *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. Samples of serum colon using phlebocentesis from the cephalic and jugular veins of 180 cats from the municipality of Araguaína (Tocantins) were evaluated to check for the presence of anti-*T. gondii* and anti-*Neospora* spp. through the indirect immunofluorescence reaction technique (RIFI) using the cut-off point of 1:64 and 1:25, respectively. An association between five epidemiological variables (age, sex, procedures, race and clinical signs) and the risk of infection for micro-studies studied using the chi-square method with yacht correction and odds ratio was evaluated. A prevalence of 48.3% (87/180) of animals with antibodies against *Toxoplasma gondii* (95% CI: 40.8-55.90%) and 3.9% (7/180) against *Neospora* spp. (95% CI: 1.6-7.8%). Attacks against *T. gondii* and *Neospora* spp. in the feline population and there is a statistically significant association of clinical signs and race with seroreactivity for *T. gondii* and variable race with seroreactivity for *Neospora* spp. The exposure of the feline population to the pathogens studied indicates the need to apply effective sanitary measures against these pathogens, especially in relation to *T. gondii* due to its importance in public health.

Keywords: felines, neosporosis, public health, toxoplasmosis.

## 1. Introdução

Estima-se atualmente uma população de 22,1 milhões de gatos nos domicílios brasileiros<sup>1</sup>. Como o hábito selvagem de caçar roedores nos felinos permaneceu, não são considerados totalmente domesticados no sentido clássico, o que pode estar associado à elevada preservação do genoma ancestral<sup>2</sup>. A predação de roedores, assim como outras vias de infecção, está associada à transmissão de enfermidades de relevância clínica em medicina felina, tais como toxoplasmose<sup>4</sup>.

*Toxoplasma gondii* é um protozoário cosmopolita com impacto em saúde pública cujos hospedeiros definitivos são diversas espécies de felídeos, que se infectam por meio da predação de roedores e aves, além da ingestão de água e ingestão de carnes não-cozidas<sup>3</sup>. A soroprevalência de *T. gondii* em gatos pode ser maior que 80%, variando de acordo com a região geográfica estudada<sup>4</sup>. Os sinais clínicos da toxoplasmose felina incluem hiperestesia muscular, pneumonia, hepatite, dispneia, taquipneia, icterícia, diarreia, febre e convulsões<sup>5</sup>.

Já *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*, também são protozoários coccídeos<sup>6</sup>. A infecção em gatos já foi demonstrada experimentalmente, assim como a transmissão transplacentária de *N. caninum*<sup>6,7,8</sup>. Em gatos experimentalmente infectados, foram verificados sinais clínicos como necrose músculo-esquelética, hepatite necrosante, pneumonia e necrose renal tubular<sup>9</sup>. Para seu diagnóstico laboratorial podem-se utilizar a reação por imunofluorescência indireta (RIFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação em cadeia da polimerase (PCR)<sup>10,11</sup>.

Raras são as investigações sobre a circulação de *T. gondii* e *Neospora* spp. em gatos da Região Norte do Brasil, que abrange o ecossistema amazônico, onde os gatos estão presentes em 22,7% dos domicílios<sup>1,12</sup>. Ressalta-se que tais animais podem ser tornar fonte de disseminação ambiental e infecção para humanos contactantes, devido à eliminação fecal de oocistos de *T. gondii* por felino.<sup>3,13</sup>

Devido à relevância desses micro-organismos em Medicina Veterinária e as enfermidades que podem ser provocadas por tais patógenos em felinos, este estudo foi desenvolvido com os objetivos de investigar a presença de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. em gatos do município de Araguaína (Tocantins) e verificar a sua associação com variáveis epidemiológicas avaliadas.

## 2. Material e Métodos

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Tocantins (UFT) com registro identificado pelos protocolos de N° 23101.000.988/2018-10 e N° 23101.000874-38 (Anexo I e Anexo II).

### 2.1 Área de estudo

O município de Araguaína (7° 11' 28" de latitude Sul e 48° 12' 26" de longitude Oeste) está localizado na região do Norte do Tocantins, Região da Amazônia Oriental Brasileira, onde predomina o clima tipo Aw (quente e úmido) de acordo com Köppen, com temperatura média anual de 26°C, precipitação média pluviométrica de 1.869 mm anuais com período chuvoso de outubro a abril <sup>14,15</sup>. Atualmente, estima-se pelo Centro de Controle de Zoonoses de Araguaína (CCZ) de acordo com o sistema de gerenciamento de localidades do programa de controle de endemias (SISLOC) <sup>16</sup> que o município possui 16.607 gatos.



FIGURA 1 - Araguaína e sua localização no estado do Tocantins e em relação a Amazônia Legal.

Fonte: Antero<sup>15</sup>.

### 2.2. Amostragem

Para a determinação do tamanho da amostra admitiram-se duas prevalências esperadas, sendo a prevalência esperada para *Toxoplasma gondii* de 87,3% (55/63)<sup>17</sup> e para *Neospora* spp. de 6,6% (10/151)<sup>18</sup> e uma população estimada de 16.607 gatos<sup>16</sup> em 2017 pelo

CCZ. O nível de confiança de 95% e variação de 5% foram utilizados para a amostragem dos dois patógenos, seguindo a metodologia proposta por Thrusfield<sup>19</sup>.

A determinação do tamanho da amostra examinada resultou em 170 animais para a maior amostragem<sup>19</sup>. Para evitar potenciais perdas optou-se por aumentar para 180 amostras.

### 2.3. Colheita das amostras e coleta de dados

No período de março de 2015 a dezembro de 2018, foram colhidas 107 amostras de sangue de gatos domiciliados provenientes de atendimento clínico-veterinário, 60 amostras de gatos errantes procedentes do CCZ de Araguaína e 13 amostras de gatos errantes das imediações da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Tocantins (EMVZ-UFT).

Após o esclarecimento sobre o estudo, os tutores autorizavam a colheita de amostras biológicas dos animais de sua propriedade mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo III). A colheita de amostras dos animais errantes foi realizada mediante autorização do diretor do CCZ de Araguaína e do diretor da EMVZ/UFT. No momento da colheita de sangue foram realizados a contenção física, o exame clínico do animal (anamnese, aferição da temperatura, tempo de preenchimento capilar, palpação abdominal entre outros) e coletados os dados referentes a variáveis epidemiológicas (Anexo IV).

Após o exame inicial foi realizada a flebocentese da veia cefálica ou da veia jugular de aproximadamente 4 mL de sangue quando possível em sistema de sucção a vácuo em tubos com ácido etilenodiaminotetracético tripotássico e tubos com ativador de coagulação. As amostras de soro obtidas após centrifugação foram armazenadas a -20 °C em microtubos de poliestireno esterilizados.

As características epidemiológicas individuais do animal foram idade (>6 meses ou <6 meses), sexo (macho ou fêmea), sinais clínicos aparentes (presença ou ausência de qualquer sinal de anormalidade ao atendimento clínico após completa anamnese e exame físico), raça (raça definida ou sem raça definida) e procedência (errante ou domiciliado).

### 2.4. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora* spp.

A detecção de anticorpos IgG contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. foi realizada por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), com base em antígenos de taquizoítos do isolado RH de *T. gondii* e antígenos de taquizoítos de *N. caninum* isolado NC-1.

Procedeu-se diluição do soro com tampão fosfato salino (PBS 1x) e adotou-se como ponto de corte para positividade a diluição de 1:64<sup>20 B</sup> e 1:25<sup>21</sup> para *T. gondii* e *Neospora* spp.,

respectivamente. As amostras consideradas positivas ( $>1:64$  para *T.gondii* e  $>1:25$  para *Neospora* spp.) foram tituladas em diluições superiores até a última diluição na qual ocorria fluorescência.

A leitura foi realizada em sala escura com microscópio equipado para fluorescência na objetiva de 40x no Laboratório de Parasitologia da EMVZ-UFT. Foram consideradas positivas as reações que possibilitaram a completa fluorescência da superfície dos taquizoítos utilizados como antígeno.

## 2.5. Análise estatística

A análise dos fatores associados foi realizada com uso do *software* estatístico *EpiInfo*<sup>TM</sup> 7.2 e baseada na associação da presença ou ausência da infecção por *T. gondii* e *Neospora* spp. na população felina com as variáveis epidemiológicas (idade, sexo, sinais clínicos e procedência).

Utilizou-se o método estatístico de chi-quadrado ( $\chi^2$ ) bicaudal com correção de Yates e *Odds ratio*. Um valor de  $p \leq 0,05$  foi indicativo da presença de variável estatisticamente significativa.

## 3. Resultados e Discussão

A prevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* obtida foi de 48,3% (87/180; IC 95%: 40,8-55,9%) dos animais com títulos que variaram entre 64 a 4096 (Tabela 1).

TABELA 1 - Prevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em 180 amostras de soro de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, 2019, segundo o título testado

|              | Título de Anticorpos (UI) |       |       |         |        | Positivos/Nº<br>Total (%) | IC 95%      |
|--------------|---------------------------|-------|-------|---------|--------|---------------------------|-------------|
|              | 1:64                      | 1:128 | 1:256 | 1: 2048 | 1:4096 |                           |             |
| Errantes     | 14                        | 12    | 11    | 02      | 01     | 40/73                     |             |
| Domiciliados | 39                        | 08    |       |         |        | 47/107                    |             |
| <b>Total</b> | 53                        | 20    | 11    | 02      | 01     | 87/180 (48,3)             | 40,8 - 55,9 |

A prevalência foi menor do que as encontradas nos estudos realizados por Magalhães et al.<sup>22</sup> na ilha de Fernando de Noronha (Pernambuco) (71,26%; 248/348), por Cavalcante et al.<sup>17</sup> no estado de Rondônia (87,3%; 55/63), por Furtado et al.<sup>23</sup> no Pantanal Sul-matogrossense (90,0%; 9/10), no Parque Estadual do Cantão (80%; 8/10) e no Parque Nacional das Emas (77,8%; 7/9), e também por Mendes-de-Almeida et al.<sup>24</sup> no Rio de Janeiro (92,1%; 35/38), o que pode ser atribuído ao fato de Magalhães et al.<sup>22</sup>, Cavalcante et al.<sup>17</sup> e Furtado et al.<sup>23</sup> terem

estabelecido um ponto de corte menor para a RIFI do que no presente estudo (1:16<sup>22</sup>; 1:25<sup>17</sup>; 1:16<sup>23</sup>), com exceção de Mendes-de-Almeida et al.<sup>24</sup> que utilizaram uma técnica diferente (hemaglutinação indireta), contudo com ponto de corte semelhante aos demais estudos (1:16<sup>24</sup>).

As diferenças ambientais e culturais também podem ter influenciado nos índices de prevalência, pois enquanto nesta pesquisa foram utilizados apenas animais do espaço urbano do município, Cavalcante et al.<sup>17</sup> e Furtado et al.<sup>23</sup> avaliaram somente animais da zona rural. Já Magalhães et al.<sup>22</sup> relataram que existe na Ilha de Fernando de Noronha o hábito cultural da oferta de vísceras de animais abatidos aos felinos, além das condições de não restrição da circulação destes animais e de alto índice de predação de aves e roedores pelos felinos locais, pressionando inclusive o equilíbrio da avifauna autóctone e migratória.

O valor foi semelhante ao verificado por Braga et al.<sup>21</sup> em São Luís (Maranhão) (50,5%; 101/200), Oliveira et al.<sup>25</sup> em Ilhéus (Bahia) (50%; 14/28) e Feitosa et al.<sup>26</sup> em Patos (Paraíba) (43,8%; 88/201), que utilizaram a RIFI com ponto de corte de 1:40<sup>21</sup>, 1:64 e 1:16<sup>26</sup> respectivamente. Tal semelhança pode ter ocorrido devido às semelhanças ambientais entre Araguaína e São Luís, uma vez que ambos estão inseridos no Bioma Amazônico, onde há um maior favorecimento da esporulação de oocistos devido a grande quantidade de áreas preservadas próximas à área urbana, além do clima quente e úmido. Já os resultados encontrados em Patos Paraíba, podem ser atribuídos ao menor ponto de corte estabelecido (1:16), o que favorece uma maior sensibilidade da técnica, por outro lado, tais amostras eram oriundas de regiões com condições ambientais desfavoráveis (semi-árido)<sup>26</sup>.

Valores menores de prevalência do que o do presente estudo foram relatados por outros autores no Brasil utilizando a RIFI, como por Sousa et al.<sup>18</sup> em Campo Grande (32,5%; 49/151) com ponto de corte de 1:40, Souza et al.<sup>27</sup> em Rio Branco (Acre) (24,7%; 22/89) que utilizaram o mesmo ponto de corte aqui adotado, Caldart et al.<sup>28</sup> em Londrina (Paraná) (20,9%; 87/415) com ponto de corte de 1:16, Pinto et al.<sup>29</sup> em Porto Alegre (Rio Grande do Sul) (37,9%; 93/245) com ponto de corte de 1:16, Koch et al.<sup>30</sup> em Curitiba (Paraná) (21%; 21/100) com ponto de corte de 1:50.

Vale ressaltar que os diferentes percentuais de soropositividade são decorrentes das diferenças ambientais dos locais de estudo, bem como das características individuais do grupo estudado, métodos laboratoriais e pontos de corte utilizados<sup>21,31</sup>. Comumente, são verificadas maiores prevalências de sororreatividade em animais procedentes de ambientes rurais<sup>17,23</sup>, regiões periféricas<sup>21</sup>, animais domiciliados sem restrição de locomoção<sup>21</sup> e com amostras submetidas a técnicas com menor ponto de corte em comparação com animais procedentes de áreas urbanas e de áreas centrais do município, animais com restrição de acesso à área externa,

que possuem maior assistência veterinária e cujas amostras são submetidas a testes com maior ponto de corte<sup>29</sup>.

Isso pode ser relacionado à condição de que na zona rural e regiões periféricas o felino é muito utilizado no controle de roedores e aves sinantrópicas, tem livre acesso externo<sup>24</sup>, bem como é comum o hábito de ofertar carnes não-cozidas<sup>24</sup>, além de serem submetidos, via de regra, a menor frequência de consultas veterinárias e reduzido uso de anti-helmínticos, elevando, assim, o risco de exposição a *T.gondii*. Durante a pesquisa foi relatado por alguns proprietários que os mesmos ofereciam produtos cárneos não cozidos aos gatos, bem como seu uso no controle de roedores nos domicílios. Alguns proprietários comentaram espontaneamente que adquiriram os felinos por não ter tido sucesso no controle de roedores com o uso de métodos de desratização e anti-ratização, relatando que após o ingresso do gato no domicílio reduziu-se significativamente o número de roedores sinantrópicos na residência. Tais fatores podem influenciar na ausência de diferença entre os animais domiciliados e errantes.

A sororreatividade para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* foi associada com as variáveis raça e sinais clínicos (Tabela 2).

TABELA 2 - Análise bivariada de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* em felinos amostrados (N=180) do município de Araguaína, Tocantins, Brasil, 2019 e variáveis epidemiológicas

| Variável        | Total | <i>Toxoplasma gondii</i> |       |             |             | $\chi^2$ |
|-----------------|-------|--------------------------|-------|-------------|-------------|----------|
|                 |       | Positivos (%)            | OR    | IC 95%      | P           |          |
| Idade           |       |                          |       |             |             |          |
| Jovem           | 30    | 16 (53,3)                | 1,272 | 0,58- 2,79  | 0,69        | 0,160    |
| Adulto          | 150   | 71 (47,3)                |       |             |             |          |
| Sexo            |       |                          |       |             |             |          |
| Macho           | 81    | 33 (40,7)                | 1,745 | 0,94- 3,17  | 0,09        | 2,869    |
| Fêmea           | 99    | 54 (54,5)                |       |             |             |          |
| Sinais clínicos |       |                          |       |             |             |          |
| Presente        | 51    | 31 (60,8)                | 2,021 | 1,04- 3,91  | <b>0,05</b> | 3,749    |
| Ausente         | 129   | 56 (43,4)                |       |             |             |          |
| Procedência     |       |                          |       |             |             |          |
| Errante         | 73    | 40 (54,8)                | 1,547 | 0,85- 2,83  | 0,20        | 1,641    |
| Domiciliado     | 107   | 47 (43,9)                |       |             |             |          |
| Raça            |       |                          |       |             |             |          |
| Raça definida   | 8     | 07 (87,5)                | 7,975 | 1,198-184,6 | <b>0,05</b> | 3,633    |
| SRD*            | 172   | 80 (46,5)                |       |             |             |          |

\*SRD: Sem raça definida

Apesar de não ter sido constatada associação entre a variável idade e a soropositividade para *T. gondii* nesta pesquisa (Tabela 2), em estudos anteriores verificou-se a relação com maior faixa etária<sup>26</sup>, uma vez que animais mais velhos estão expostos aos parasitas há mais tempo do que animais mais jovens e podem re-eliminar oocistos quando infectados com cepas heteróligas<sup>32,33,34</sup>.

Em relação à variável sexo, tanto machos quanto fêmeas apresentaram a mesma chance estatística de apresentar sororreatividade para *T. gondii*, corroborando ao encontrado por Bresciani et al.<sup>32</sup> e Cruz et al.<sup>35</sup>. Estudos indicam que fêmeas podem vir a ser mais resistentes a infecções parasitárias do que os machos, devido a uma resposta imune mais eficaz<sup>36</sup>.

A variável sinais clínicos por sua vez teve associação estatisticamente significativa e considerando a prevalência de anticorpos encontrada sugere-se que há uma elevada exposição da população felina do município a *T. gondii* e que alguns animais da pesquisa podem estar com infecção ativa, ao menos aqueles animais com títulos acima de 1024<sup>25,32</sup>. Em animais com presença de sinais clínicos constatou-se duas vezes mais chances de ter sororreatividade (*Odds ratio*: 2,021).

Os três animais que apresentaram positividade nas maiores titulações (1:4096 e 1:2048) apresentavam sinais clínicos e possuíam menos de seis meses de idade. O animal que se mostrou reagente na maior diluição (1:4096) apresentou ataxia dos membros pélvicos e os animais com reação positiva na segunda maior titulação (1:2048) apresentaram esplenomegalia e uveíte, sinais clínicos estes, que embora genéricos, são compatíveis com quadros clínicos de toxoplasmose felina.<sup>12</sup>

Diferentemente da variável sinais clínicos, a variável procedência não foi associada com a sororreatividade, contudo ressalta-se que os animais errantes tiveram um número maior de reações positivas (54,8%/N=73) do que os animais que possuíam tutor (43,9%/ N=107).

Animais errantes ou ferais não são submetidos em algumas situações a vacinações e tratamentos antiparasitários, pois não possuem tutores, e têm maior privação alimentar, portanto a caça de roedores e pequenas aves pode ser, na maioria das vezes, a única fonte de alimentação para esse grupo, levando a uma maior taxa de infecção por *T. gondii*. Caldart et al.<sup>28</sup> verificaram prevalências maiores e estatisticamente significativas em gatos com hábito de caçar roedores e que não recebem água tratada.

Gatos que possuem hábitos de caça podem ter um aumento da exposição caso os roedores se encontrem infectados com *T. gondii*, devido à perda do medo inato dos roedores aos felinos<sup>37</sup>. Gatos domiciliados, por sua vez, ainda que façam uso da caça por instinto, têm maior



oferta alimentar por meio da disponibilidade de rações, reduzindo deste modo sua exposição ao agente<sup>38,39</sup>.

Embora essa realidade seja a esperada, existem regiões nas quais as características ambientais ou sociais levam a um cenário epidemiológico diferente, pois o acesso irrestrito à área externa ao domicílio e os hábitos de alimentação como a oferta de alimentos não-cozidos (produtos cárneos e derivados), acabam sendo mais relevantes do que o fato do animal ser errante ou domiciliado<sup>26</sup>.

Logo, em estudos nos quais não haja diferença significativa entre o grupo errante e domiciliado, como no presente, pode ocorrer de os animais domiciliados também terem livre acesso à rua ou terem uma alimentação que favoreça a transmissão do agente, interferindo no que se espera em estudos epidemiológicos entre animais de grupos tão distintos em relação a cuidados de bem-estar<sup>26</sup>.

A variável raça foi considerada como fator associado de risco (*Odds ratio*: 7,975) para animais com raça definida que tiveram maior prevalência (87,5%; 07/08) do que os animais sem raça definida (46,5%; 80/172), divergindo ao encontrado por Souza et al.<sup>27</sup>, que não encontraram diferença entre animais com e sem raça definida. Deve-se levar em conta que o reduzido número amostral de animais com raça definida pode ter influenciado nos resultados. A ausência de raça pode não influenciar diretamente o risco de infecção, todavia esse grupo animal pode pertencer a proprietários com menos acesso a serviços veterinários e com menor poder aquisitivo, o que indiretamente favoreceria uma maior exposição<sup>28</sup>.

Já com relação a *Neospora* spp. foi verificada a prevalência de anticorpos de 3,9% (IC 95%: 1,6-7,8%) com títulos variando entre 25 e 100 (Tabela 3).

TABELA 3 - Prevalência de anticorpos contra *Neospora* spp. em 180 amostras de soro de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, 2019, segundo o título testado

|       | Título de Anticorpos (UI) |      |       | Positivos/Nº Total (%) | IC 95%  |
|-------|---------------------------|------|-------|------------------------|---------|
|       | 1:25                      | 1:50 | 1:100 |                        |         |
| Total | 5                         | 1    | 1     | 7/180 (3,9)            | 1,6-7,8 |

Avaliando-se a prevalência de anticorpos anti-*Neospora* spp. de 3,9%, pode-se inferir que existe uma baixa taxa de infecção do patógeno na população felina. Apenas dois animais apresentaram títulos acima do ponto de corte de 1:25, demonstrando, além do reduzido número de positivos, uma baixa soroconversão, corroborando aos resultados encontrados em outros estudos<sup>40</sup>.

De acordo, com Meneses et al.<sup>41</sup> e Feitosa et al.<sup>26</sup> infecções naturais em gatos por *Neospora* spp. nunca foram reportadas, o que poderia sugerir uma menor soroconversão ou uma resistência ao patógeno, apesar de haver relatos de infecção experimental em animais imunossuprimidos.

A prevalência para anticorpos contra *Neospora* spp. encontrada em felinos de Araguaína foi inferior do que aquelas encontradas utilizando-se a RIFI por Bresciani et al.<sup>32</sup> em São Paulo (24,5%; 100/400) usando como ponto de corte 1:16, por Braga et al.<sup>21</sup> no Maranhão (27%; 54/200) com ponto de corte de 1:25 e por Koch et al.<sup>30</sup> no Paraná (42%; 42/100) com ponto de corte de 1:50.

Contudo, se assemelha às verificadas por Arraes-Santos et al.<sup>42</sup> nos estados do Pernambuco e Piauí (5,7%; 5/35), por Sousa et al.<sup>18</sup> em Mato Grosso do Sul (6,6%; 10/151), por Lima et al.<sup>43</sup> na Ilha de Fernando de Noronha (3,11%; 8/257) e por Meneses et al.<sup>41</sup> na Bahia (2,9%; 8/272). Assim, observaram-se percentuais menores de soroprevalência a nível nacional do que aquele encontrado para *T. gondii*, no entanto tal ocorrência é esperada, pois *Neospora* spp. aparenta ser menos difundido do que *T. gondii*. Com exceção de Lima et al.<sup>43</sup> que usou a técnica de aglutinação e ponto de corte de 1:20, os demais autores supracitados usaram a RIFI com ponto de corte de 1:50.

Com exceção da variável raça, as demais variáveis epidemiológicas avaliadas não se mostraram associadas com a sororreatividade para *Neospora* spp. (Tabela 4).

TABELA 4 - Análise bivariada de risco para infecção por *Neospora* spp. em felinos amostrados (N=180) do município de Araguaína, Tocantins, Brasil, 2019 e variáveis epidemiológicas

| Variável        | Total | <i>Neospora</i> spp. |       |             | p           | $\chi^2$ |
|-----------------|-------|----------------------|-------|-------------|-------------|----------|
|                 |       | Positivos (%)        | OR    | IC 95%      |             |          |
| Idade           |       |                      |       |             |             |          |
| Jovem           | 30    | 1 (3,3)              | 0,828 | 0,09-7,14   | 0,73        | 0,119    |
| Adulto          | 150   | 6 (4,0)              |       |             |             |          |
| Sexo            |       |                      |       |             |             |          |
| Macho           | 81    | 4 (4,9)              | 1,662 | 0,36-7,65   | 0,79        | 0,073    |
| Fêmea           | 99    | 3 (3,0)              |       |             |             |          |
| Sinais clínicos |       |                      |       |             |             |          |
| Presente        | 51    | 3 (5,9)              | 1,953 | 0,42-9,05   | 0,66        | 0,195    |
| Ausente         | 129   | 4 (3,1)              |       |             |             |          |
| Procedência     |       |                      |       |             |             |          |
| Errante         | 73    | 5 (6,8)              | 3,86  | 0,73- 20,46 | 0,19        | 1,701    |
| Domiciliado     | 107   | 2 (1,9)              |       |             |             |          |
| Raça            |       |                      |       |             |             |          |
| Raça definida   | 8     | 2 (25)               | 10,75 | 1,23-68,31  | <b>0,03</b> | 4,947    |
| SRD*            | 172   | 5 (2,9)              |       |             |             |          |

\*SRD: Sem raça definida

Não houve diferença significativa entre animais de diferentes sexos, corroborando ao descrito por Meneses et al.<sup>41</sup>. Bresciani et al.<sup>32</sup> que constataram não haver a influência do sexo na associação com a positividade para anticorpos anti-*Neospora* spp. Contudo, a não evidência, no presente estudo, da faixa etária como fator associado diverge ao constatado por Meneses et al.<sup>41</sup> e Bresciani et al.<sup>32</sup> que verificaram a influência da idade (animais acima de um ano de idade) na sororreatividade para *Neospora* spp.

A variável raça foi verificada como fator associado, pois em animais com raça definida ( $p < 0,05$ ) constatou-se maior prevalência, o que pode sugerir uma maior exposição dessa categoria às fontes de infecção. Contudo, cabe destacar que há uma grande amplitude no intervalo de confiança o que pode ser justificado pelo baixo número de animais com raça definida, tendo portanto, influenciado nos resultados apresentados para a variável raça. Bresciani et al.<sup>32</sup>, também observaram maior prevalência de soropositividade para *Neospora* em animais com raça definida, entretanto não encontraram diferença estatística significativa entre os dois grupos.

Destaca-se que são fundamentais os estudos de prevalência, pois atuam como um indicador direto do grau de propagação de agentes infecciosos e parasitários e embasam as medidas preventivas para o controle sanitário em animais, o que reflete consequentemente e diretamente na saúde humana quando se tratam de zoonoses<sup>12</sup>.

Diante do cenário encontrado sugere-se o enfrentamento desses patógenos na perspectiva da Saúde Única, derivada da integração de conhecimentos entre diferentes áreas da saúde, pois uma abordagem holística pode possibilitar a eficiência e eficácia no controle das doenças relacionadas aos agentes estudados.

#### **4. Conclusões**

Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. estão presentes em felinos do município de Araguaína, indicando a exposição da população aos patógenos avaliados.

Idade, sexo, procedência não estão associados com a sororreatividade para os patógenos estudados.

A presença de sinais clínicos e raça são variáveis associadas à detecção de anticorpos anti-*T.gondii*. A variável raça está associada significativamente para detecção de anticorpos anti-*Neospora*.

## 5. Referências

1. Brasil. Pesquisa Nacional de Saúde: Acesso e Utilização dos Serviços de Saúde, Acidentes e Violências: Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE); 2015. 100 p.
2. Tamazian G, Simonov S, Dobrynin P, Makuni A, Logachev A, Komissarova A, Shevchenko A, Brukhin V, Cherkasov N, Svitin A, Koepfli K-P, Antunes A, Quilez J, Lorente-Galdos B, Alkan C, Marques-Bonet T, Menotti-Raymond M, David VA, Narfstrom K, O'Brien SJ. Annotated features of domestic cat – *Felis catus* genome. *Gigascience*. 2014; 3: 1-3.
3. Karakavuk M, Aldemir D, Mercier A, Atalay Şahar E, Can H, Murat JB, Döndüren Ö, Can Ş, Özdemir HG, Değirmenci Döşkaya A, Pektaş B, Dardé ML, Gürüz AY, Döşkaya M. Prevalence of toxoplasmosis and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains isolated in wild birds of prey and their relation with previously isolated strains from Turkey. *PLoS One*. 2018; 13(4): 1-17.
4. Dubey JP, Hemphill A, Calero-Bernal R, Schares G. *Neosporosis in animals*. Boca Raton: CRC Press; 2017. 548 p.
5. Hartmann K, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Möstl K, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. *Toxoplasma gondii* infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg*. 2013; 15(7): 631-37.
6. Cerqueira-Cézar CK, Calero-Bernal R, Dubey JP, Gennari SM. All about neosporosis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2017. 26(3): 253-79.
7. Dubey JP, Lindsay DS. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J Parasitol*. 1989; 75(5): 765-71.
8. McCallister MM, Jolley WR, Wills RA, Lindsay DS, McGuire AM, Tranas JD. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Am J Vet Res*. 1998; 59(4): 441-44.
9. Dubey JP, Lindsay DS, Lipscomb TP. Neosporosis in cats. *Vet Pathol*. 1990; 7(5): 335-39.
10. Gondim LF, Lindsay DS, McCallister MM. Canine and bovine *Neospora caninum* control sera examined for cross-reactivity using *Neospora caninum* and *Neospora hughesi* indirect fluorescent antibody tests. *J Parasitol*. 2009; 95(1): 86-8.
11. Ciaramella P, Corona M, Cortese L, Piantedosi D, Santoro D, Loria AD, Rigato R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Vet Parasitol*. 2004; 123(1-2): 11-15.
12. Calero-Bernal R, Gennari SM. Clinical toxoplasmosis in dogs and cats: an update. *Front Vet Sci*. 2019; 6: 1-9.
13. Teixeira WFP, Lopes WDZ, Cruz BC, Maciel WG, Felipelli G, Soares VE, Vieira DS, Bresciani KDS, Costa AJ. Excreção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em felinos primoinfectados com o isolado III. *Pubvet*. 2019; 13(2): 1-7.

14. Penereiro JC, Martins LS, Beretta VZ. Identificação de variabilidade e tendências interanuais em medidas hidro-climáticas na região hidrográfica do Tocantins-Araguaia, Brasil. *Rev Bras Climatol.* 2016. 18: 219-241.
15. Antero R. Urbanização pela migração em Araguaína (TO). *Caminhos da Geografia.* 2016; 17(59): 228-43.
16. Araguaína. Secretaria Municipal de Saúde. Centro de Controle de Zoonoses. SISLOC – Sistema de Gerenciamento de Localidades – Programa de Controle de Endemias. Araguaína, TO: Centro de Controle de Zoonoses, 2017. 7 p.
17. Cavalcante GT, Aguiar DM, Chiebao D, Dubey JP, Ruiz VLA, Dias RA, Camargo LMA, Labruna MB, Gennari SM. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural western Amazon, Brazil. *J Parasitol.* 2006; 92(4): 863-64.
18. Sousa KCM, Herrera HM, Domingos IH, Campos JBV, Santos IMC, Neves HH. Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2014; 23(4): 449-55.
19. Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology.* 3rd ed. Oxford: Blackwell Science; 2007. 626 p.
20. Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1964; 6(3): 117-181.
21. Braga MSCO, André MR, Jusi MMG, Freschi CR, Teixeira MCA, Machado RZ. Occurrence of *anti-Toxoplasma gondii* and *anti-Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2012; 21(2): 107-11.
22. Magalhães FJR, Ribeiro-Andrade M, Souza FM, Lima Filho CDF, Biondo AW, Vidotto O, Navarro IT, Mota RA. Seroprevalence and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* infection in cats, dogs, pigs and equines of the Fernando de Noronha Island, Brazil. *Parasitol Int.* 2017; 66(2): 43-6.
23. Furtado MM, Gennari SM, Ikuta CY, Jácomo ATA, De Moraes ZM, Pena HFJ, Porfírio GEO, Silveira L, Sollmann R, Souza GO, Tôrres GM, Ferreira Neto JS. Serosurvey of smooth *Brucella*, *Leptospira spp.* and *Toxoplasma gondii* in free-ranging jaguars (*Panthera onca*) and domestic animals from Brazil. *PLoS One.* 2015; 10(11): 1-13.
24. Mendes-de-Almeida F, Labarthe N, Guerrero J, Faria MC, Branco AS, Pereira CD, Barreira JD, Pereira MJ. 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. *Vet Parasitol.* 2007; 147(1-2): 9-15.
25. Oliveira GMS, Simões JM, Schaer RE, Freire SM, Nascimento RJM, Pinheiro AMCM, Carvalho SMS, Mariano APM, Carvalho RC, Munhoz AD. Frequency and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women and their pets in Ilhéus, Bahia, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019; 52: 1-9.
26. Feitosa TF, Vilela VLR, Dantas ES, Souto DVO, Pena HFJ, Athayde ACR, Azevêdo SS. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in domestic cats from the Brazilian semi-arid: seroprevalence and risk factors. *Arq Bras Med Vet Zoot.* 2014; 66(4): 1060-066.

27. Souza SF, Medeiros LS, Belfort AS, Cordeiro ALL, Federle M, Souza AP, Moura AB. *Toxoplasma gondii* antibodies in domiciled cats from rio branco Municipality, Acre State, Brazil. *Semina: Ciênc Agrár.* 2015; 36(6): 3757-762.
28. Caldart ET, Constantino C, Pasquali AKS, Benitez AN, Hamada FN, Dias RCF, Rorato-Nascimento AM, Marana ERM, Navarro IT, Mascarenhas NMF, Freitas JC, Freire RL. Zoonosis in dogs and cats attended by the Birth Control Project: *Toxoplasma gondii*, *Leishmania spp.* and *Leptospira spp.*, serodiagnosis and epidemiology. *Semina: Ciênc Agrár.* 2015; 36(1): 253-66.
29. Pinto LD, Araújo FAP, Stobb NS, Marques SMT. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciênc Rural.* 2009; 39(8): 2464-469.
30. Koch MO, Laskoski LM, Aguiar DM, Silva BR, Régio RR, Ishikura JI, Vaz FF, Locatelli-Dittrich R. Detection of antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in horses, dogs and cat. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2019; 56(2): 1-8.
31. Spohr KAH, Borges AMCM, Ribeiro TMP, Jayme VS, Godoy I, Nakazato L, Dutra V, Aguiar DM. Fatores de risco associados à prevalência de anticorpos anti-*Sarcocystis neurona*, *Neospora spp.* e *Toxoplasma gondii* em equinos de Roraima, Amazônia. *Pesq Vet Bras.* 2018; 38(7): 1337-343.
32. Bresciani KDS, Gennari SM, Serrano ACM, Rodrigues AAR, Ueno T, Franco LG, Perri SH, Amarante AF. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. *Parasitol Res.* 2007; 100(2): 281-85.
33. Cardia DFF, Camossi LG, Silveira Neto L, Langoni H, Bresciani KDS. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania spp.* infection in cats from Brazil. *Vet Parasitol.* 2013; 197: 634-37.
34. Zulpo DL, Sammi AS, Dos Santos JR, Sasse JP, Martins TA, Minutti AF, Cardim, ST, De Barros LD, Navarro IT, Garcia JL. *Toxoplasma gondii*: A study of oocyst re-shedding in domestic cats. *Vet Parasitol.* 2018; 249: 17-20.
35. Cruz MA, Ullmann LS, Montañó PY, Hoffmann JL, Langoni H, Biondo AW. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Paraná, Brazil. *Ver Bras Parasitol Vet.* 2011; 20(3): 256-58.
36. Morales-Montor J, Chavarria A, De León MA, Del Castillo LI, Escobedo EG, Sánchez EN, Vargas JA, Hernández-Flores M, Romo-González T, Larralde C. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. *J Parasitol.* 2004; 90(3): 531-46.
37. Tedford E, Mcconkey G. Neurophysiological changes induced by chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Pathogens.* 2017; 6(2): 1-13.
38. Robertson ID. Survey of predation by domestic cats. *Aust Vet J.* 1998; 7(8): 551-554.
39. Saad FMOB, França J. Alimentação natural para cães e gatos. *Rev Bras Zoot.* 2010; 39: 52-9.

40. Sedlák K, Bartova E, Machacova T. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cats from the Czech Republic. *Acta Parasitol.* 2014; 59(2): 359-61.
41. Meneses ID, Andrade MR, Uzêda RS, Bittencourt MV, Lindsay DS, Gondim LFP. Frequency of antibodies against *Sarcocystis neurona* and *Neospora caninum* in domestic cats in the state of Bahia, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2014; 23(4): 526-29.
42. Arraes-Santos AI, Araújo AC, Guimarães MF, Santos JR, Pena HFJ, Gennari SM, Azevedo SS, Labruna MB, Horta MC. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. *Vet Parasitol: Reg Stud Reports.* 2016; 5: 14-8.
43. Lima DCV, Magalhães FJR, Andrade MR, Silva JG, Morais EGF, Lima Filho CDF, Porto WJN, Mota RA. Anti-*Neospora caninum* antibodies in feral cats on the Island of Fernando de Noronha, Brazil. *Acta Parasitol.* 2018; 63(3): 645-46.

### **CAPÍTULO 3 – SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. E ANTI-*Brucella abortus* E FATORES ASSOCIADOS EM GATOS (*Felis silvestris catus*) DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS, BRASIL**

#### **Resumo**

*Leptospira* spp. e *Brucella abortus* são patógenos bacterianos que podem acometer seres humanos e animais. O presente estudo foi desenvolvido com os objetivos de detectar anticorpos anti-*Leptospira* e anti-*B.abortus* e verificar a presença de fatores associados à soropositividade em gatos. Foram colhidas 180 amostras de soro de felinos domésticos (*Felis silvestris catus*) procedentes da área urbana do município de Araguaína-Tocantins por flebocentese das veias cefálicas e jugulares. As amostras foram submetidas a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* e anti-*Brucella abortus*, respectivamente por meio da soroaglutinação microscópica e antígeno acidificado tamponado seguido da confirmação pelo teste de 2-mercaptoetanol e soroaglutinação lenta em tubos. Dados do questionário epidemiológico (idade, sexo, procedência, raça e presença de sinais clínicos) foram coletados e analisados por meio do *software Epi Info®* com os dados de soropositividade constatados para pesquisa de fatores associados por meio do teste de chi-quadrado. Verificou-se prevalência de 5,6% (2,7-10%) contra *Leptospira* spp. no presente estudo, todavia nenhuma amostra foi reagente para *B. abortus*. Nenhuma das variáveis estudadas está associada à soropositividade para os patógenos avaliados. Portanto, há o contato de *Leptospira* spp. com a população felina do município, indicando a possibilidade da circulação de sorovares patogênicos e que a presença de anticorpos anti- *Leptospira* independe das variáveis analisadas.

Palavras-chave: brucelose, felinos, leptospirose, saúde pública.

#### **Abstract**

*Leptospira* spp. and *Brucella abortus* are bacterial pathogens that can affect humans and animals. The present study was developed with the objectives of detecting anti-*Leptospira* and anti-*B.abortus* antibodies and verifying the presence of factors associated with seropositivity in cats. 180 serum samples were collected from domestic cats (*Felis silvestris catus*) from the urban area of the municipality of Araguaína-Tocantins by phlebocentesis of the cephalic and jugular veins. The samples were subjected to anti-*Leptospira* and anti-*Brucella abortus* antibodies, respectively, by microscopic serum agglutination and buffered acidified antigen followed by confirmation by the 2-mercaptoethanol test and slow serum agglutination in tubes. Data from the epidemiological questionnaire (age, sex, origin, race and presence of clinical signs) were collected and analyzed using the *Epi Info®* software with the seropositivity data found to search for associated factors using the chi-square test. There was a prevalence of 5.6% (2.7-10%) against *Leptospira* spp. in the present study, however, no sample was reactive for *B. abortus*. None of the studied variables is associated with seropositivity for the pathogens evaluated. Therefore, there is contact with *Leptospira* spp. with the feline population of the municipality, indicating the possibility of the circulation of pathogenic serovars and that the presence of anti-*Leptospira* antibodies does not depend on the variables analyzed.

Keywords: brucellosis, felines, health public, leptospirosis.



## 1. Introdução

A espécie *Felis silvestris catus* é considerada um dos animais de companhia mais comuns nas populações humanas, tendo sua domesticação ligada principalmente ao controle de roedores<sup>1</sup>. A população de felinos domésticos é estimada em mais de 600 milhões de espécimes em todo mundo, e de aproximadamente 22,1 milhões de gatos no Brasil<sup>2,3</sup>. Todavia, a aproximação de humanos e gatos trouxe consigo uma maior probabilidade da transmissão de zoonoses. Entre os agentes etiológicos de zoonoses destacam-se *Brucella* spp. e *Leptospira* spp.

*Leptospira* é um gênero bacteriano em que são descritas atualmente 35 espécies<sup>4</sup>. A principal forma de transmissão da *Leptospira* spp. em gatos ocorre pela via oral, em especial pela predação de roedores<sup>5</sup>. Os principais sinais clínicos da leptospirose felina são febre, nefrite intersticial, azotemia, insuficiência renal, poliúria, polidipsia e hipergamaglobulinemia<sup>6,7</sup>. Não foram encontrados relatos da transmissão da *Leptospira* de felinos para humanos, contudo é possível ocorrer devido a leptospirose felina por até oito semanas<sup>8</sup>.

Outra espécie de bactéria raramente estudada, mas que pode afetar felinos é *Brucella abortus*, não se sabendo ainda precisamente o papel destes na epidemiologia da brucelose<sup>9,10</sup>. Foi reportado recentemente na literatura reportam a detecção de DNA de *Brucella* spp. e o isolamento de *Brucella abortus* em amostras de felinos<sup>9,11</sup>.

São raras as pesquisas de anticorpos contra *B. abortus* e contra *Leptospira* spp. no Brasil em felinos, particularmente no estado do Tocantins, demonstrando a necessidade de estudos sobre a circulação de tais patógenos para orientar medidas de prevenção e controle.

Diante do exposto, o presente estudo foi desenvolvido com os objetivos de investigar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e *B. abortus* e analisar potenciais fatores de risco associados a soroprevalência em felinos domésticos do estado do Tocantins.

## 2. Material e métodos

A Comissão de Ética de Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (CEUA-UFT) aprovou os procedimentos experimentais com espécimes de *Felis silvestris catus* com registro de protocolo N° 23101.000.988/2018-10 e N° 23101.000874-38.

### 2.1 Área de estudo

O município de Araguaína (7° 11' 28" S e 48° 12' 26" W) localiza-se próximo à divisa com os estados do Pará e Maranhão com uma altitude de 227 m, com clima úmido classificado como Aw (Tropical com chuvas de verão), precipitação média anual que varia entre 1700-1800 mm e temperatura média anual de 27-28°C e máxima de 32°C<sup>12</sup>.

## 2.2. Amostragem

A amostragem foi realizada com base na prevalência esperada para *Leptospira* spp. de 6,96%<sup>13</sup> e 2,1% para *B.abortus*<sup>14</sup>, nível de confiança de 95%, variação de 5%, admitindo-se uma população estimada de 16.607 felinos domésticos<sup>15</sup>. O tamanho da amostra foi estimado em no mínimo 99 animais com base na metodologia preconizada por Thrusfield<sup>16</sup>, no entanto como havia sido autorizado pela CEUA a coleta de um número amostral maior para outros patógenos, optou-se por se analisarem 180 amostras.

## 2.3. Colheita das amostras e coleta de dados

Amostras de sangue de 180 gatos (107 domiciliados e 73 errantes) foram colhidas no período de 2015 a 2018 por flebocentese (veia cefálica ou jugular) de 4 mL de sangue em tubos com ativador de coagulação e tubos com anticoagulante em sistema de sucção a vácuo. Microtubos de poliestireno esterilizados foram usados para armazenar sangue e soro dos animais a -20° C.

Os tutores dos gatos domiciliados foram esclarecidos sobre os aspectos principais da pesquisa, e autorizaram a colheita de amostras biológicas de seus animais no estudo, registrando sua assinatura de consentimento. As variáveis epidemiológicas coletadas foram raça, sexo (macho ou fêmea), faixa etária (maior ou menor que seis meses), raça (com raça definida ou sem raça definida), procedência (domiciliado ou errante) e presença ou ausência de sinais clínicos ao exame clínico.

Em relação aos animais errantes, foram obtidas as autorizações dos diretores do Centro de Controle de Zoonoses e da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Tocantins (EMVZ-UFT) para que fossem realizados a captura e procedimentos experimentais nesses animais. Uma vez capturado e contido fisicamente o animal, eram procedidas as colheitas das amostras de sangue, exame clínico e aferição de sinais vitais.

## 2.4. Detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp.

Para a detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. empregou-se a sorologia microscópica (MAT), considerada prova padrão, utilizando culturas vivas de *Leptospira* spp. cultivadas em meio Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris (EMJH) em estufa bacteriológica BOD a 30°C por sete a dez dias.

Foram utilizados antígenos de 20 sorovares: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Canicola, Djasiman, Sentot, Grippytyphosa, Hebdomadis,

Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Cantagalo, Pomona, Pyrogenes, Hardjoprajitno, Hardjobovis, Wolffi, Shermani e Tarassovi.

As amostras foram submetidas a etapa de triagem que consistiu em inserir em cada poço de microplacas de ensaio sorológico, 50 µL de soro (amostra a ser testada) e 50 µL de antígeno diluídos em tampão salino, levando em seguida a estuda a 37°C por uma hora e submetidas posteriormente a leitura em microscópio de campo escuro (Zeiss® - modelo Axioskop 40) utilizando-se a objetiva de 10X.

Os soros foram testados a uma diluição inicial de 1:100 como ponto de corte para positividade (100 UI) e diluição final de 1:800, sendo consideradas reagentes as amostras que aglutinaram 50% ou mais de leptospiras livres em comparação ao controle negativo em microscópio de campo escuro<sup>17</sup>.

#### 2.5. Detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus*

Anticorpos contra *B. abortus* foram pesquisados com a realização do Teste de Rosa Bengala com antígeno acidificado tamponado (AAT) fornecido pelo Instituto Biológico®, utilizando-se antígeno da estirpe 1119-3 de *B. abortus* tamponado em pH de 3,65 na concentração de 8%.

Foram homogeneizados 30 µL de soro e 30 µL de antígeno em uma placa de vidro, e após quatro minutos de homogeneização constante foi verificada por meio de luz indireta a presença ou não de aglutinação em grumos, considerando-se como positivas as amostras que demonstraram aglutinação até quatro minutos do teste conforme padronizado. As amostras consideradas reagentes no AAT foram submetidas ao teste confirmatório do 2-Mercaptoetanol (2-ME) em conjunto com o teste de soroaglutinação lenta em tubos no Laboratório Veterinário da Agência Goiana de Defesa Agropecuária<sup>18</sup>.

#### 2.6. Análise estatística

A análise dos fatores de risco baseou-se na associação da presença ou ausência da infecção por *Leptospira* spp. e *Brucella abortus* na população de gatos com as características epidemiológicas estudadas (sexo, raça, idade, sinais clínicos e procedência). Utilizou-se o método estatístico do chi-quadrado ( $\chi^2$ ) bicaudal com correção de Yates e *Odds ratio* com o uso do *software* estatístico *EpiInfo*<sup>TM</sup> 7.2. Considerou-se um valor de  $p \leq 0,05$  como indicativo de variável estatisticamente significativa.

### 3. Resultados e Discussão

Anticorpos contra *Leptospira* spp. foram constatados em 5,6% (10/180) dos animais. (Tabela 1).

TABELA 1 - Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em 180 amostras de soro de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, 2019, segundo o título testado

| Sorovar       | Título de Anticorpos (UI) |       |       |        | Positivos/Nº<br>Total (%) | IC 95%   |
|---------------|---------------------------|-------|-------|--------|---------------------------|----------|
|               | 1:100                     | 1:200 | 1:400 | 1: 800 |                           |          |
| Pomona        | 2                         | 2     | 2     | 2      | 8 (4,44)                  |          |
| Djasiman      | 1                         | 0     | 0     | 0      | 1 (0,56)                  |          |
| Grippotyphosa | 1                         | 0     | 0     | 0      | 1 (0,56)                  |          |
| Total         | 4                         | 2     | 2     | 2      | 10/180 (5,60)             | 2,7-10,0 |

A prevalência verificada neste estudo foi semelhante à detectada no Pantanal Sul-Matogrossense (10,00%; 1/10)<sup>19</sup>, em Goiânia, Goiás, (6,96%; 23/330)<sup>13</sup>, em Patos, Paraíba, (5,43%; 7/129)<sup>20</sup> e em Curitiba, Paraná, (4,6%; 3/65)<sup>18</sup> empregando-se a mesteira técnica de MAT.

O sorovar mais prevalente verificado neste estudo, como já citado, foi o Pomona, o que mostra semelhança ao encontrado em estudos realizados em Montreal no Canadá (10,36%; 26/251)<sup>21</sup>, Curitiba no Paraná<sup>18</sup> e em Patos na Paraíba<sup>20</sup>. Em Montreal<sup>21</sup> o sorovar Grippotyphosa foi também um dos mais prevalentes nas respostas sorológicas.

Reações à diferentes sorovares foram verificadas em outras localidades do Brasil, o que pode se relacionar principalmente às características ambientais diversas. Diferentemente ao encontrado no presente estudo, em Goiânia, Goiás<sup>13</sup> houve maior número de reações positivas ao sorovar Cynopteri, enquanto que no Pantanal, Mato Grosso do Sul,<sup>19</sup> foram detectadas apenas para o sorovar Hardjo. Contudo, ressalta-se que em Goiânia, Goiás,<sup>13</sup>, o também foram detectadas reações positivas para o sorovar Djasiman, à semelhança ao encontrado nesta pesquisa.

Os suínos são considerados reservatórios do sorovar Pomona, contudo não é tão comum a criação de suínos no espaço urbano de Araguaína, Tocantins, embora ela exista, o que sugere a participação de outros hospedeiros, tais como os cães, que em estudo anterior por Galvão pôde-se observar animais positivos para o sorovar Pomona<sup>17,22</sup>. Não se descarta também a participação de roedores e morcegos, pois os mesmos são as presas mais comuns para felinos no espaço urbano, tendo já sido verificada presença de sororreatividade para o sorovar Pomona em roedores sinantrópicos<sup>23</sup> e para outros sorovares em morcegos no Brasil<sup>24</sup>.

Sugere-se que o gato seja mais susceptível a infecções pelo sorovar Pomona, pois este sorovar já foi isolado da cultura de urina de paciente felino no Chile<sup>25</sup> e relacionado a casos

clínicos de leptospirose felina nos Estados Unidos da América<sup>6</sup>. Portanto, a presença de sororreatividade para o sorovar Pomona indicou que existe uma possibilidade da ocorrência de leptospirose clínica em gatos, sugerindo a inclusão pelos médicos veterinários desta enfermidade a seu critério na suspeita clínica e no diagnóstico diferencial de doenças de importância em medicina felina.

Diferentemente do sorovar Pomona, acredita-se que os gatos sejam mais resistentes à infecções determinadas por sorovares comumente presentes em roedores sinantrópicos como *Icterohaemorrhagiae* e *Copenhagueni*, pois a coevolução dos gatos com os roedores estabeleceria uma adaptação para a infecção para estes sorovares<sup>26</sup>.

Os sorovares *Grippotyphosa* e *Djasiman* são mais relacionados a animais silvestres<sup>22</sup>, sendo importante registrar que no município de Araguaína há muitas habitações humanas com animais domésticos próximas de áreas ainda preservadas, devido a sua rápida expansão urbana, especialmente após a abertura da Rodovia BR-153 (Belém-Brasília). Isolamento de *Leptospira kirschneri* serovar *Grippotyphosa* já foi realizado a partir de tecido renal de morcegos da amazônia peruana<sup>27</sup>, demonstrando a possibilidade da transmissão para outras espécies, especialmente os felinos que os predam no ambiente urbano. Contudo, roedores sinantrópicos e cães de espaços urbanos também podem ser carreadores do sorovar *Grippotyphosa*<sup>23,28</sup>. Sorovares detectados no presente estudo já foram verificados em outras espécies no município de Araguaína, conforme reportado por Galvão<sup>17</sup>, que constatou a detecção de anticorpos contra o sorovar *Grippotyphosa* na espécie canina, o que já indicava a circulação destes sorovares.

A sororreatividade na soroaglutinação microscópica não implica necessariamente que os felinos sejam considerados reservatórios ou carreadores, mas tão somente que tiveram exposição a *Leptospira* spp.<sup>29</sup>. No entanto, estudos anteriores comprovaram que a exposição e infecção com *Leptospira* pode resultar em leptospirose por até oito semanas e no isolamento da bactéria da urina de gatos, demonstrando que os felinos podem ter um papel importante na disseminação para outras espécies, incluindo o ser humano, ainda que não tenha sido relatada esta transmissão<sup>8,25</sup>.

As variáveis epidemiológicas analisadas (idade, sexo, procedência, raça e presença de sinais clínicos) não se confirmaram como fatores associados para à detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp., mas em outros estudos foi demonstrado que idade e estilo de vida livre (sem restrição de locomoção) apresentaram associação estatisticamente significativa com a infecção por *Leptospira* spp.<sup>21</sup> (Tabela 2).

TABELA 2 - Análise bivariada de risco para infecção por *Leptospira* spp. em felinos amostrados (N=180) do município de Araguaína, Tocantins, Brasil, 2019 e variáveis epidemiológicas

| Variável        | Total | <i>Leptospira</i> spp. |       |            |       | $\chi^2$ |
|-----------------|-------|------------------------|-------|------------|-------|----------|
|                 |       | Positivos (%)          | OR    | IC 95%     | p     |          |
| Idade           |       |                        |       |            |       |          |
| Jovem           | 30    | 2 (5,3%)               | 0,789 | 0,18-5,82  | 0,844 | 0,021    |
| Adulto          | 150   | 8 (6,7%)               |       |            |       |          |
| Sexo            |       |                        |       |            |       |          |
| Macho           | 81    | 4 (4,9%)               | 1,242 | 0,22-2,96  | >0,99 | 0        |
| Fêmea           | 99    | 6 (6,1%)               |       |            |       |          |
| Sinais clínicos |       |                        |       |            |       |          |
| Presente        | 51    | 3 (5,9%)               | 1,089 | 0,22-4,32  | 0,809 | 0,058    |
| Ausente         | 129   | 7 (5,4%)               |       |            |       |          |
| Procedência     |       |                        |       |            |       |          |
| Errante         | 73    | 4 (5,5%)               | 0,976 | 0,26-3,58  | 0,768 | 0,087    |
| Domiciliado     | 107   | 6 (5,6%)               |       |            |       |          |
| Raça            |       |                        |       |            |       |          |
| Definida        | 8     | 1 (12,5%)              | 2,299 | 0,09-17,08 | 0,986 | 0,0002   |
| SRD*            | 172   | 10 (5,8%)              |       |            |       |          |

\*SRD: Sem raça definida

Sugere-se que animais mais velhos poderiam ter maior eficiência em predação e maior exposição temporal no ambiente, o que é plausível biologicamente, devido ao fato que os roedores são os reservatórios na natureza e a via oral é a forma de transmissão mais comum para felinos<sup>5,6</sup>.

Em relação à detecção de anticorpos anti-*B.abortus*, quatro animais (2,2%) reagiram ao teste de triagem AAT (Figura 1), mas não demonstraram sororreatividade na confirmação pelo teste de 2-ME. Ressalta-se que podem ocorrer reações cruzadas nos testes de triagem com outros micro-organismos, tais como com *Yersinia enterocolitica* e com *Escherichia coli*<sup>30</sup>. Diferentemente ao encontrado nesta pesquisa, Garoussi et al.<sup>14</sup> verificaram 2,1% de felinos com reação positiva para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* pelo AAT e 1,4% por 2-ME no Irã em 2018.



FIGURA 1 - Reação positiva em amostra de soro de felino no teste de antígeno acidificado tamponado (AAT).  
Fonte: Arquivo Pessoal.

A prevalência da infecção por *B. abortus* já era esperada baixa com base em estudos realizados por outros autores, pois gatos são considerados resistentes a infecções por bactérias do gênero *Brucella* spp., contudo já foi isolada *Brucella abortus* de descarga uterina de uma gata com piometra em 2017<sup>9</sup>.

Vale ressaltar que no Brasil a sororreatividade para presença de anticorpos contra *B. abortus* já foi constatada em outras espécies de felídeos como *Panthera onca* (onça-pintada)<sup>19,31,32</sup>, *Leopardus tigrinus* (gato-do-mato pequeno)<sup>33</sup>, *Puma concolor* (onça-vermelha)<sup>32</sup> e *Panthera leo* (leão)<sup>34</sup>. Evidência molecular da presença de DNA de *B. abortus* em *Leopardus pardalis* (jaguatirica) e *Panthera onca* foi constatada no estado do Mato Grosso<sup>31</sup>. Tais estudos demonstram um maior número de estudos com animais silvestres do que com animais domésticos no Brasil. Contudo, estudos anteriores já demonstraram que os felinos domésticos podem estar relacionados a manutenção de *Brucella abortus* no ambiente<sup>9</sup>, por isso ressalta-se a maior necessidade de estudos com gatos, especialmente aqueles residentes em áreas rurais.

Com base nos resultados, constatou-se a exposição dos felinos à *Leptospira* spp., sugerindo que eventualmente possam ocorrer casos de infecção e enfermidade clínica nos animais do município.

Considerando o estreito convívio entre cães, gatos e o homem, e o fato da transmissão de *Leptospira* spp. de cães para o ser humano já ter sido reportada, é importante que outros

estudos sejam realizados na população felina, com o objetivo de contribuir com informações sobre esta enfermidade nos animais.

Como não há vacinas para prevenção de leptospirose e brucelose em felinos, sugere-se que os programas de profilaxia deem ênfase, dentre outras medidas ao controle de roedores, como forma de reduzir a exposição à *Leptospira* spp., e à restrição dos felinos compartilharem o mesmo ambiente de bovinos, os quais são os hospedeiros preferenciais de *B.abortus*. Além disso destaca-se a importância da guarda responsável e da educação em saúde, em especial por serem antropozoonoses graves.

Devido à epidemiologia da leptospirose e da brucelose envolver a saúde pública, animal e ambiental, indica-se a interdisciplinaridade de conhecimentos em saúde única para um controle eficiente dos patógenos avaliados.

#### **4. Conclusões**

Há ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. para os sorovares Pomona, Djasiman e Grippytyphosa na população felina da área urbana do município de Araguaína, contudo sem detecção de aglutininas anti-*B.abortus*.

As variáveis epidemiológicas analisadas (idade, sexo, procedência, raça e presença de sinais clínicos) não são fatores associados à soropositividade para *Leptospira* spp.



## 5. Referências

1. Hu Y, Hu S, Wang W, Wu X, Marshall FB, Chen X, Hou L, Wang C. 2014 Earliest evidence for commensal processes of cat domestication. *P Natl Acad Sci Usa*. 2014; 111(1):116-20.
2. Driscoll CA, Clutton-Brock J, Kitchen AC, O'Brien EJ. 2009. The taming of the domestic cat. Genetic and archaeological findings hint that wildcats became housecats earlier-and in a different place--than previously thought. *Sc Am*. 2009; 300(6): 68-75.
3. Brasil. Pesquisa Nacional de Saúde: Acesso e Utilização dos Serviços de Saúde, Acidentes e Violências: Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE); 2015. 100 p.
4. Thibeaux R, Iraola G, Ferrés I, Bierque E, Girault D, Soupé-Gilbert ME, Picardeau M, Goarant C. Deciphering the unexplored *Leptospira* diversity from soils uncovers genomic evolution to virulence. *Microb Genom*. 2018; 4(1): 1-10.
5. Shophet R, Marshall RB. An experimentally induced predator chain transmission of *Leptospira ballum* from mice to cats. *Brit Vet J*. 1980; 136(3): 265-70.
6. Arbour J, Blais MC, Carioto L, Sylvestre D. Clinical leptospirosis in three cats (2001-2009). *J Am Anim Hosp Assoc*. 2012; 48(4): 256-60.
7. Beaudu-Lange C, Lange E. Unusual clinical presentation of leptospirosis in a cat. *Rev Vétérinaire Clin*. 2014; 49(3): 115-22.
8. Larsson CE, Santa Rosa CA, Larsson MH, Birquel EH, Fernandes WR, Paim GV. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. *Int J Zoonoses*. 1985; 12(2): 111-19.
9. Wareth G, Melzer F, El-Diasty M, Schmoock G, Elbauomy E, Abdel-Hamid N, Sayour A, Neubauer H. Isolation of *Brucella abortus* from a dog and a cat confirms their biological role in re-emergence and dissemination of bovine brucellosis on dairy farms. *Transbound Emerg Dis*. 2017; 64(5): 27-30.
10. Hariharan H, Hariharan SH. Zoonotic bacteria associated with cats. *Vet Med Open J*. 2017; 2(3): 68-75.
11. Truong LQ, Kim JT, Yoon B, Her M, Jung SC, Hahn T. Epidemiological survey for *Brucella* in wildlife and stray dogs, a cat and rodents captured on farms. *J Vet Med Sci*. 2011; 73(12): 1597-601.
12. Mota LAL, Araújo SM, Ramos EC, Araújo KD, Rosa PRO. Problemas ocasionados pelo elevado índice pluviométrico em Araguaína-TO. 2007; 9: 164-81.
13. Parreira IM, Jayme VS, Buzin EJWK, Tomaz LAG, Delfino DAA. (2010). Epidemiological features of infection through *Leptospira* spp in domestic cats (*Felis catus*) apparently healthy within the metropolitan area of Goiania, Brazil. *Enciclopédia Biosfera*. 2010; 6(9): 1-5.
14. Garoussi MT, Mehrzad J, Baniassadi A, Khoshnegah j. Seroprevalence of brucellosis in different kinds of feline population in north-east of Iran. *Comp Clinical Pathology*. 2018 27: 1155-160.

15. Araguaína. Secretaria Municipal de Saúde. Centro de Controle de Zoonoses. SISLOC – Sistema de Gerenciamento de Localidades – Programa de Controle de Endemias. Araguaína, TO: Centro de Controle de Zoonoses, 2017. 7 p.
16. Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science; 2007. 626 p.
17. Galvão SR. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp em caninos urbanos de Araguaína, Tocantins, Brasil [Tese]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2009.
18. Cordeiro CT, Vieira RFC, Oliveira ST. Anti-*Leptospira* spp. antibodies and leptospirosis in cats in the metropolitan area of Curitiba, State of Paraná – Brazil. *Archives of Veterinary Science*. 2017; 22(3): 131-38.
19. Furtado MM, Gennari SM, Ikuta CY, Jácomo ATA, De Moraes ZM, Pena HFJ, Porfírio GEO, Silveira L, Sollmann R, Souza GO, Tôrres GM, Ferreira Neto JS. Serosurvey of smooth *Brucella*, *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* in free-ranging jaguars (*Panthera onca*) and domestic animals from Brazil. *PLoS One*. 2015; 10(11): 1-13.
20. Brasil AWL, Parentoni RN, Feitosa TF, Vilela VLR, Alves CJ, Vasconcellos SA, Azevedo SS. Anti-*Leptospira* spp. antibodies in cats from the semiarid of the Paraíba State. *Semina: Ciênc Agrár*. 2014; 35(6): 3215-220.
21. Rodriguez J, Blais M-C, Lapointe C, Arsenault J, Carioto L, Harel J. Serologic and Urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. *J Vet Int Med*. 2014; 28(2): 284-93.
22. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and Leptospirosis. 2 nd ed. Melbourne, MediSci; 1999. 296 p.
23. Lenharo DK, Santiago MEB, Lucheis SB. Avaliação sorológica para leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do parque zoológico municipal de Bauru, SP. *Arqu. Inst. Biol*. 2012; 79(3): 333-41.
24. Zetun CB, Hoffmann JL, Silva RC, Souza LC, Langoni H. Antibodies in vampire bats (*Desmodus rotundus*) in Botucatu Region, SP, Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2009; 15(3): 546-52.
25. Ojeda J, Salgado M, Encina C, Santamaria C, Monti G. Evidence of interspecies transmission of pathogenic *Leptospira* between livestock and a domestic cat dwelling in a dairy cattle farm. *J Vet Med Sci*. 2018; 80(8): 1305-308.
26. Lilenbaum W, Narduche L, Loureiro AP, Penna BA. Letter to the Editor. *J Vet Int Medic*. 2014; 28(6): 1633.
27. Matthias MA, Díaz MM, Campos KJ, Calderon M, Willig MR, Pacheco V, Gotuzzo E, Gilman RH, Vinetz JM. Diversity of bat-associated *Leptospira* in the Peruvian Amazon inferred by bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. *Am J Trop Med Hyg*. 2005; 73(5): 964-74.
28. Yasuda PH, Santa Rosa CA, Yanaguita RM. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*. 1980; 14(4): 589-596.

29. Fornazari F. Are reptiles reservoirs of leptospirosis? a brief discussion based on serological studies. *Eco Health*. 2017; 14(2): 203-04.
30. Nielsen K, Smith, P, Widdison J, Gall D, Kelly L, Nicoletti P. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. *Vet Microbiol*. 2004; 100(1-2): 25-30.
31. Almeida ABPF, Silva CPA, Pitchenin LC, Dahroug MAA, Silva GCP, Sousa VRF, Souza RL, Nakazato L, Dutra V. *Brucella abortus* and *Brucella canis* in captive wild felids in Brazil. *Int Zoo Yearbook*. 2013; 47(1): 204-07.
32. Onuma SSM, Kantek DLZ, Crawshaw Júnior PG, Morato RG, May-Júnior JA, Moraes ZM, Ferreira Neto JS, Aguiar DM. Detection of *Leptospira* spp. and *Brucella abortus* antibodies in free-living jaguars (*Panthera onca*) in two protected areas of Northern Pantanal, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2015; 57(2): 177-180.
33. Oliveira-Filho EF, Pinheiro JW, Souza MM, Santana VL, Silva JCR, Mota RA, Sá FB. Serologic survey of brucellosis in captive neotropical wild carnivores in northeast Brazil. *J Zoo Wildlife Med*. 2012; 43(2): 384-87. 79
34. Antunes JMAP, Machado GP, Costa LF, Fornazari F, Cipriano JRB, Appolinário CM, Allendorf SD, Bagagli E, Teixeira CR, Megid J. Comparison of infection by *Brucella* spp. in free-ranging and captive wild animals from São Paulo State, Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2010; 6(4): 654-58.

**CAPÍTULO 4 - DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *Cytauxzoon felis* EM FELINOS DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS (Short Communication-Redigido nas Normas do periódico Semina: Ciências Agrárias)**

**Molecular diagnosis of *Cytauxzoon felis* in felines of the city of Araguaína, state of Tocantins, Brazil**

**Diagnóstico molecular de *Cytauxzoon felis* em felinos do município de Araguaína, estado do Tocantins, Brasil**

Taiã Mairon Peixoto-Ribeiro<sup>1\*</sup>; Sebastiana Adriana Pereira Sousa<sup>1</sup>, Helcileia Dias Santos<sup>2</sup>, Marcos Rogério André<sup>3</sup>, Valéria de Sá Jayme<sup>1</sup>

**Abstract**

Cytauxzoonose is a serious disease with high lethality rates that affect felines and wild animals, and its etiological or protozoan agent is *Cytauxzoon felis*. Considering an increase in the demand for cats as pets, there is a greater demand for studies on feline health, because the present study was developed with the aim of detecting the presence or absence of *C. felis* DNA in domestic cats in the municipality of Araguaína. Blood samples from 75 cats were collected and stored in aseptic methods until DNA extraction. As DNA samples, they were subjected to a conventional polymerase chain reaction technique for detecting parasite DNA. No sample of the 75 collected was positive in the molecular diagnosis. So there is no a circulation of the agent in the analyzed feline population, or that does not have the responsibility of the tutors of the prophylactic care necessary for the prevention of cytauxzoonosis.

**KEYWORDS:** cytauxzoonosis. epidemiology. Tocantins.

**Resumo**

A Cytauxzoonose é uma enfermidade grave com elevada taxa de letalidade que acomete felídeos domésticos e selvagens, e tem como agente etiológico o protozoário *Cytauxzoon felis*. Devido a crescente procura dos gatos como animais *pet*, há maior demanda de estudos em sanidade felina. Por tal razão o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de detecção de DNA de *C. felis* em felinos domésticos do município de Araguaína. Amostras de sangue de 75 gatos foram coletadas e armazenadas em meios assépticos até a extração de DNA e submetidas à técnica de reação em cadeia da polimerase convencional. Após serem realizados o teste molecular não se detectou a presença de DNA nas amostras dos animais avaliados.

**PALAVRAS-CHAVE:** cytauxzoonose. epidemiologia. Tocantins.

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás (UFG), Av. Esperança s/n, Campus Universitário, Goiânia, GO 74690-900, Brasil. E-mail: ribeiro.vet@uft.edu.br; dri\_eafa@hotmail.com; valeria.mg@uol.com.br

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos. Universidade Federal do Tocantins, Araguaína-TO, Brasil. E-mail: hdsantos@uft.edu.br

<sup>3</sup> Departamento de Patologia Veterinária, Laboratório de Imunoparasitologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal-SP, Brasil. E-mail: marcosandre.fcav@gmail.com

\*Autor para correspondência

Os gatos e cães constituem os animais de companhia mais criados pelo homem a nível mundial. Atualmente, a população de gatos tem crescido nos lares brasileiros devido a maiores autonomia, independência e adaptação a ambientes espacialmente mais restritos em comparação à população canina, embora em determinadas localidades os felinos ainda não sejam tão valorizados como *pet* e sim utilizados com o principal objetivo de controle de roedores (Noletto, Ribeiro, Dias & Silva, 2017).

Em todo mundo estima-se que existam de 600 milhões a um bilhão de *Felis silvestris catus* (domiciliados, errantes e ferais) (Mori et al., 2019). Gatos podem ser portadores de diversas enfermidades passíveis ou não de serem transmitidas aos seres humanos, todavia a ocorrência de zoonoses ou de outras doenças de interesse em Medicina Veterinária pode ser reduzida ou controlada por meio de assistência veterinária e adequados métodos profiláticos (Canatto et al., 2012).

A cytauxzoonose é considerada uma grave enfermidade em medicina felina, pois, embora seja pouco relatada a sua ocorrência, apresenta alta taxa de letalidade que pode chegar a 40% (André et al., 2017; Furtado et al., 2017; Reichard et al., 2019; Tarigo, Kelly, Brown & Peterson, 2019).

A patogenia da cytauxzoonose decorre principalmente da isquemia tecidual devido à oclusão de vasos sanguíneos, o que, a depender do órgão afetado, pode levar a síndrome febril aguda, letargia, hipotermia, icterícia, palidez de mucosas, edema pulmonar, convulsões, perda da consciência, esplenomegalia e hepatomegalia (Meinkoth & Kocan, 2005).

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de detectar a presença de DNA de *Cytauxzoon felis* pela técnica da reação em cadeia da polimerase convencional (PCR) em amostras de sangue de gatos do município de Araguaína, estado do Tocantins, Brasil.

Um total de 75 amostras (amostragem por conveniência) de sangue foi coletado de gatos domiciliados e errantes por meio de punção em sistema de sucção a vácuo da veia cefálica e jugular entre os anos de 2015-2018. As amostras foram aliqüotadas em microtubos livres de RNases, DNases e pirógenos, e armazenadas a -20 °C até a extração de DNA. A pesquisa foi autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins sob as identificações de registro N° 23101.000.988/2018-10 e N° 23101.000874-38.

As amostras de sangue foram submetidas à extração do DNA genômico total pelo *Kit Biopur Mini Spin Plus* (Biometrix Diagnostica®, Brasil), conforme as recomendações do fabricante.

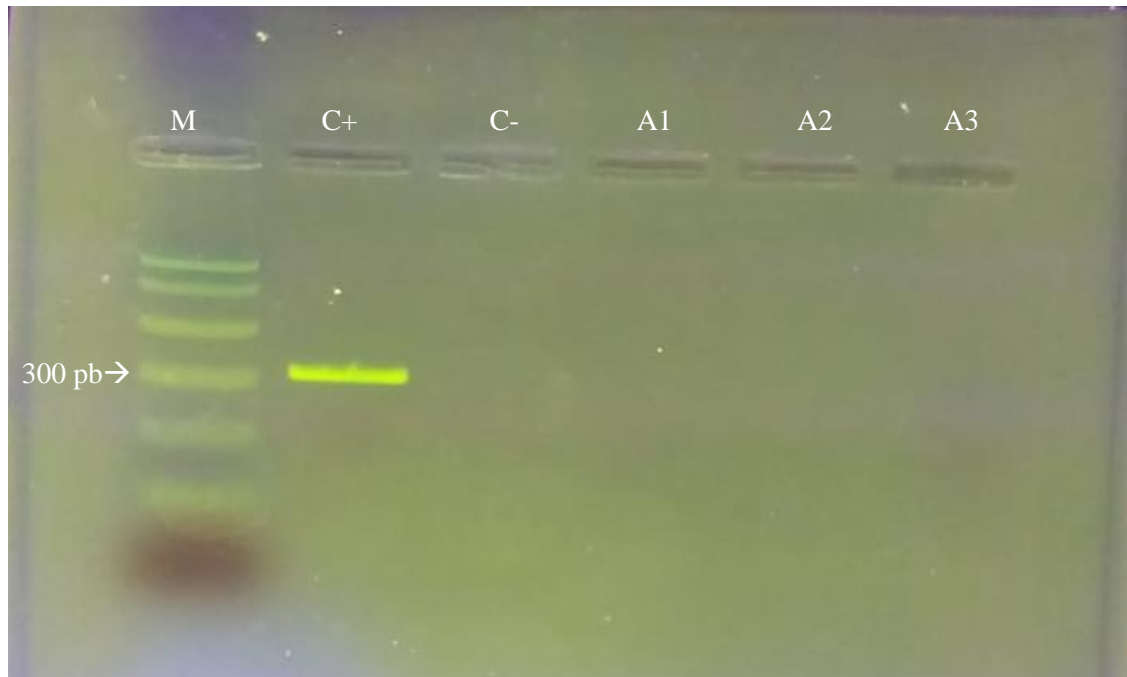
Para o diagnóstico molecular foi utilizada a técnica de reação em cadeia da polimerase convencional para detecção de DNA de *Cytauxzoon felis*. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados na PCR foram baseados na sequência parcial do gene da subunidade menor do 18S rRNA (CYT18S rRNA) que amplifica especificamente 284 pb, sendo as sequências iniciadoras selecionadas: CYT18S rRNA F- GCGAATCGCATTGCTTTATGCT e CYT18S rRNA R- CCAATTGATACTCCGGAAAGAG (Birkenheuer et al., 2006).

Reações de amplificação para o gene 18S rRNA de *Cytauxzoon felis* foram realizadas com volume final de 20 µl, contendo 2 µl do DNA molde (30 ng/µl), 50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 50 mM KCl, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2,5 mM de dNTPs, 20 mM de cada oligonucleotídeo específico e 1,5 U de Taq Platinum® DNA polimerase (Invitrogen).

As reações de PCR foram realizadas em termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems®). Os ciclos de amplificação foram os mesmos para cada par de oligonucleotídeos programados: um ciclo inicial de 95°C por cinco minutos, seguidos por 35 ciclos de 95°C por um minuto, 63°C por um minuto, 72°C por um minuto, e um ciclo de extensão final de 72°C por 10 minutos. Cada reação foi checada para contaminação pelo uso de controles negativos utilizando todos os reagentes exceto o DNA.

As amostras foram testadas para a presença da amplificação utilizando-se 5 µl de cada produto amplificado misturados a 2 µl de tampão de amostra, e gel de agarose 1% com tampão TAE (Tris – Ácido acético – EDTA). Os fragmentos foram separados por eletroforese por 30 min a 90V. Fragmentos foram visualizados por coloração com GelGreen™ (Biotium) e visualizados em transluminador ultravioleta. Foi ainda utilizado o marcador de peso molecular de 100pb PCR marker Promega®.

A 75 amostras de sangue analisadas foram negativas para *C.felis* (Figura 1). Contudo, a negatividade na PCR não necessariamente significa que o parasito não circule na população felina do município, e sim que não foi detectado o seu DNA nos animais amostrados, que não representam estatisticamente a população.



**Figura 1.** Reação em cadeia da polimerase convencional para *Cytauxzoon felis*. Resultados em amostras biológicas de felinos domésticos testadas com o par de *primer C.felis* 18S rRNA. (M) Marcador peso molecular de 100pb; (C+) controle positivo - felídeo naturalmente infectado; (C-) controle negativo - água deionizada; (A1) sangue gato 1; (A2) sangue gato 2; (A3) sangue gato 3. Verificar a positividade do controle positivo pela distribuição da banda na altura de 284pb em gel de agarose a 1% e negatividade das amostras testadas.

Diferentemente dos resultados da presente pesquisa, já foi relatada a detecção de DNA de *Cytauxzoon felis* no estado do Rio de Janeiro no município de Areal (um animal) por Maia et al. (2013), no Mato Grosso do Sul no município de Campo Grande (1/151) por André et al. (2015) e no Rio Grande do Norte no município de Mossoró (2/3) por André et al. (2017). Possivelmente, há maior circulação de *C.felis* em felídeos silvestres em decorrência de probabilidade de exposição e espoliação ectoparasitárias mais elevadas e contínuas (André et al., 2014). Embora ainda sejam desconhecidos os vetores de cytauxzoonose no Brasil, acredita-se que carrapatos estejam envolvidos, uma vez que já foi comprovada a transmissão de *C.felis* por carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. e *Dermacentor* spp. (André et al., 2017; Furtado et al., 2017), mais frequentes em ambientes rurais e silvestres.

Furtado et al. (2017) sugeriram que *Panthera onca* (onça/jaguar) possa ser um reservatório em condições naturais, pois detectaram DNA de *C.felis* em 100% dos animais capturados do bioma Cerrado (4/4), 100% do bioma Pantanal (22/22) e 75% do bioma Amazônia (3/4), além de que quatro animais recapturados em intervalos de sete a 38 meses

continuaram a apresentar positividade, ausência de sinais clínicos e ausência de alterações nos padrões de locomoção no ambiente. Contudo até o presente momento, apenas *Lynx lynx* (Lince pardo) é cientificamente reconhecido como reservatório de *C.felis* em condições naturais, por possuir infecção persistente e sinais clínicos mais brandos (Blouin, Kocan, Kocan & Hair, 1987).

Mesmo não tendo sido comprovado a circulação de *C.felis* nos animais avaliados, pondera-se que os tutores devem adotar cuidados preventivos na região, em especial quanto a restrição do acesso de seus animais a áreas com presença de artrópodes vetores e o uso de métodos de repelência de carrapatos, como formulações tópicas (associação de selamectina e sarolaner) ou colares acaricidas (associação de imidacloprida e flumetrina) (Reichard et al. 2013; Reichard et al. 2019).

Apesar da não detecção de DNA de *Cytauxzoon felis* nas amostras analisadas de gatos domésticos oriundos do município de Araguaína, sugere-se a realização de futuros estudos, bem como emprego de outras técnicas moleculares.

## Referências

- André, M.R., Denardi, N.C.B., Sousa, K.C.M., Gonçalves, L.R., Henrique, P.C., Ontivero, C.R.G.G., Gonzalez, I.H.L., Nery, C.V.C., Chagas, C.R.F., Monticelli, C., Santis, A.C.A., & Machado, R.Z. (2014). Arthropod-borne pathogens circulating in free-roaming domestic cats in a zoo environment in Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5(5): 545-551. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.03.011.
- André, M.R., Herrera, H.M., Fernandes, S.J., Sousa, K.C., Gonçalves, L.R., Domingos, I.H., De Macedo, G.C., & Machado, R.Z. (2015). Tick-borne agents in domesticated and stray cats from the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, midwestern Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6(6): 779-786. doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.07.004
- André, M.R., Filgueira, K.D., Calchi, A.C., Sousa, K.C.M., Gonçalves, L.R., Medeiros, V.B., Ximenes, P.A., Lelis, I.C.N.G., Meireles, M.V.N., & Machado, R.Z. (2017). Co-infection with arthropod-borne pathogens in domestic cats. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(4): 525-531. doi: 10.1590/s1984-29612017064
- Birkenheuer, A.J., Marr, H., Alleman, A.R., Levy, M.G., Breitschwerdt, E.B. (2006). Development and evaluation of a PCR assay for the detection of *Cytauxzoon felis* DNA in feline blood samples. *Veterinary Parasitology*, 137(1-2): 144-149. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.12.007
- Birkenheuer AJ, Levy MG, & Breitschwerdt EB. (2003). Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(9): 4172-4177. doi: 10.1128/JCM.41.9.4172-4177.2003
- Blouin, E.F., Kocan, A.A., Glenn, B.L., Kocan, K.M., & Hair, J.A. (1984). Transmission of *Cytauxzoon felis* Kier, 1979 from bobcats, *Felis rufus* (Schreber), to domestic cats by



*Dermacentor variabilis* (Say). *Journal of Wildlife Diseases*, 20(3): 241-242. doi: 10.7589/0090-3558-20.3.241

Blouin, E.F., Kocan, A.A., Kocan, K.M., & Hair, J. (1987). Evidence of a limited schizogonous cycle for *Cytauxzoon felis* in bobcats following exposure to infected ticks. *Journal of Wildlife Diseases*, 23(3): 499-501. doi: 10.7589/0090-3558-23.3.499

Canatto, B.D., Silva, E.A., Bernardi, F., Mendes, M.C.N.C., Paranhos, N.T., & Dias, R.A. (2012). Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(6): 1515-1523. doi: 10.1590/S0102-09352012000600017

Furtado, M.M., Taniwaki, S.A., Metzger, B., Dos Santos Paduan, K., O'Dwyer, H.L., De Almeida Jácomo, A.T., Porfírio, G.E.O., Silveira, L., Sollmann, R., Tôrres, N.M., & Ferreira Neto, J.S. (2017). Is the free-ranging jaguar (*Panthera onca*) a reservoir for *Cytauxzoon felis* in Brazil? *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8(4): 470-476. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.02.005

Maia, L.M.P., Cerqueira, A.M.F., Macieira, D.B., De Souza, A.M., Moreira, N.S., Da Silva, A.V., Messick, J.B., Ferreira, R.F., & Almosny, N.R.P. (2013). *Cytauxzoon felis* and 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' coinfection in a Brazilian domestic cat (*Felis catus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22(2): 289-291. doi: 10.1590/S1984-29612013000200049

Meinkoth, J.H., & Kocan, A.A. (2005). Feline cytauxzoonosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal*, 35(1): 89-101. doi: 10.1016/j.cvsm.2004.08.003

Mori, E., Menchetti, M., Camporesi, A., Caviglioli, L., Fatis K.T., & Girardello, M. (2019). License to Kill? Domestic cats affect a wide range of native fauna in a highly biodiverse Mediterranean Country. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7: 1-11. doi: 10.3389/fevo.2019.00477

Noletto, F.F., Ribeiro M.L.C., Dias F.R.C., & Silva D.A. (2017). Perfil dos tutores de gatos e aspectos relacionados à sua criação. *Acta Biomedica Brasiliensia*, 8(1): 84-94. doi: 10.18571/acbm.124

Reichard, M.V., Edwards, A.C., Meinkoth, J.H., Snider, T.A., Meinkoth, K.R., Heinz, R.E., & Little, S.E. (2010). Confirmation of *Amblyomma americanum* (acari: ixodidae) as a vector for *Cytauxzoon felis* (piroplasmorida: theileriidae) to domestic cats. *Journal of Medical Entomology*, 47(5): 890-896. doi: 10.1603/ME10013

Reichard, M.V., Thomas, J.E., Arther, R.G., Hostetler, J.A., Raetzl, K.L., Meinkoth, J.H., & Little, S.E. (2013). Efficacy of an imidacloprid 10 % / flumethrin 4.5 % collar (Seresto®, Bayer) for preventing the transmission of *Cytauxzoon felis* to domestic cats by *Amblyomma americanum*. *Parasitology Research*, 112: 11-20. doi: 10.1007/s00436-013-3277-7

Reichard, M.V., Rugg, J.J., Thomas, J.E., Allen, K.E., Barret, A.W., Murray, J.K., Herrin, B.H., Beam, R.A., King, V.L., & Vatta, A.F. (2019). Efficacy of a topical formulation of selamectin plus sarolaner against induced infestations of *Amblyomma americanum* on cats and prevention of *Cytauxzoon felis* transmission. *Veterinary Parasitology*, 270: 31-37. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.10.018

Tarigo JL, Kelly LS, Brown HM, & Peterson DS. (2019). Limited genetic variability of *Cytosuxzoon felis* apical membrane antigen-1 (ama1) from domestic cats and bobcats. *Parasites & Vectors*, 12(1): 115. doi: 10.1186/s13071-019-3347-5

## CAPÍTULO 5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo constatou-se a presença de anticorpos contra *Toxoplasma gondii*, *Neospora* spp. e *Leptospira* spp., demonstrando que houve contato dos felinos amostrados com os patógenos avaliados no município de Araguaína, Tocantins. Por outro lado, não houve a detecção de anticorpos contra *Brucella abortus*, bem como de DNA de *Cytauxzoon felis* nas amostras avaliadas.

A prevalência para detecção de aglutininas anti-*T.gondii* foi considerada elevada, se comparada às registradas em outros estudos, diferentemente da prevalência de anticorpos anti-*Neospora* e anti-*Leptospira*, verificadas neste estudo, as quais foram baixas.

As sororreações de *Leptospira* por sua vez, utilizando técnica considerada padrão-ouro (MAT) pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), possibilitou a detecção de sororeatividade principalmente ao sorovar Pomona, seguida de respostas aos sorovares Djasiman e Grippytyphosa. Por não ocorrer tão frequentemente a criação de suínos no espaço urbano do município de Araguaína, acredita-se que outros hospedeiros possam estar envolvidos na epidemiologia dos sorovares Pomona, além da possibilidade do envolvimento de animais selvagens, pois a estreita proximidade entre áreas preservadas e a área urbana permite a intertransmissão de agentes entre os dois ambientes.

A ausência da confirmação sorológica da infecção por *Brucella abortus* nos felinos estudados não indica necessariamente a ausência de circulação da bactéria na população felina. Contudo, deve ser considerada a possibilidade da ocorrência de reações cruzadas no teste de triagem empregado, que indicou quatro animais soropositivos. Ressalta-se que existem poucos estudos na literatura nacional e mundial sobre a circulação de *B.abortus* em gatos, embora já tenha sido reportado o isolamento da bactéria na espécie.

Igualmente, a ausência de positividade no diagnóstico molecular para *Cytauxzoon felis* também não significa ausência de circulação, destacando-se a adequação da avaliação de um maior número de amostras, de forma a ter maior representatividade da população local. Registra-se que será procedida a análise por PCR de todas as amostras colhidas, o que não foi possível devido a fatores intervenientes.

As variáveis raça e presença de sinais clínicos se mostraram associadas estatisticamente à detecção de anticorpos contra *T.gondii* e a variável raça para *Neospora* spp. Já as variáveis idade, sexo e procedência não se constituíram em fatores associados, contudo isto não necessariamente quer dizer que elas não influenciem, pois elas podem atuar em conjunto com outros fatores, o que poderia ser demonstrado por testes estatísticos que utilizam

a análise multivariada, contudo não empregamos tal técnica neste estudo, o que poderia ter aperfeiçoado o trabalho.

Deve-se ressaltar que mais variáveis deverão ser empregadas em estudos epidemiológicos futuros, especialmente aqueles relacionados ao hábito de caça, alimentação e acesso ao ambiente externo pelos felinos avaliados. Tais variáveis se aplicada no presente estudo, poderiam fornecer dados mais reais e concretos acerca da associação dos fatores estudados com a soropositividade para os patógenos avaliados.

É essencial enfatizar a necessidade do aprofundamento de estudos na Região Norte do Brasil, devido à incipiência de pesquisas na região, além da determinação de perfil genotípico das cepas que porventura venham a ser isoladas.

Embora a circulação dos patógenos estudados represente risco para população animal, medidas preventivas podem auxiliar significativamente na redução das infecções por protozoários e bactérias.

Cabe aos profissionais da saúde integrarem seus conhecimentos por meio da abordagem em Saúde Única (*One health*), pois a interação multidisciplinar permite maior compreensão dos cenários epidemiológicos regionais e o desenvolvimento de ferramentas mais eficazes de prevenção de enfermidades com impacto em saúde humana, animal e ambiental.

**ANEXO I – Registro da Aprovação da Primeira Coleta de Amostras junto à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (CEUA/UFT).**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**CEUA-UFT**

O projeto intitulado “**Estudo epidemiológico da leishmaniose visceral em cães e gatos no município de Araguaina-TO e suas implicações para a saúde humana**”, sob a responsabilidade da professora Dra Helciléia Dias Santos, está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela lei de Procedimentos para o Uso Científico de Animais, de 8 de outubro de 2008, estando aprovado para a sua execução pelo parecerista da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins.

Araguaína, 23 de junho de 2014.

Atenciosamente,

Assinatura manuscrita em tinta azul de Alberto Yim Júnior.

Alberto Yim Júnior

Presidente da Comissão de Ética em Pesquisa Animal da UFT

**ANEXO II – Registro da Aprovação da Segunda Coleta de Amostras junto à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (CEUA/UFT).**



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA  
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA



Araguaína, 26 de Junho de 2018.

O projeto intitulado “*DIAGNÓTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DE PATÓGENOS INFECTO-CONTAGIOSOS EM FELINOS DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS*” processo nº 23101.000.988/2018-10 sob a responsabilidade **TAIÃ MAIRON PEIXOTO RIBEIRO** está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela lei de Procedimentos para o Uso Científico de Animais, de 8 de outubro de 2008, estando aprovado para a sua execução pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins.

Atenciosamente,

**Sandro Estevan Moron**

**Coordenador da CEUA/UFT**

**ANEXO III - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE****Projeto - DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DE PATÓGENOS INFECTO-CONTAGIOSOS E PARASITARIOS EM FELINOS DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS**

Declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador responsável pela pesquisa, o Médico Veterinário. Taiã Mairon Peixoto Ribeiro, em relação a minha participação no projeto de pesquisa intitulado “DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DE *Cytauxzoon felis*, *Leptospira* spp. E *Toxoplasma gondii* EM FELINOS DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS I”, cujo objetivo é determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp., anti-*Toxoplasma Gondii* e detecção de DNA de *Leptospira* spp., *Cytauxzoon Felis* e *Toxoplasma Gondii* em felinos do município de Araguaína e avaliar a frequência e fatores de risco associados à tais patógenos. Os conhecimentos técnicos e científicos desconhecidos pela minha pessoa foram devidamente explicados. Também estou a par de que a qualquer momento poderei retirar a minha participação da pesquisa, e, além disso, tenho a plena consciência de que quaisquer danos ou gastos causados a minha pessoa, as minhas instalações e aos meus animais ocorridos devidos a minha participação na pesquisa serão integralmente reparados pelo Médico Veterinário Taiã Mairon Peixoto Ribeiro, coordenador da pesquisa. Permitirei a contenção física dos meus animais de acordo com técnicas de contenção estabelecidas em semiologia veterinária. Encontro-me ciente de que serão retirados 4 mL de sangue para os exames e que responderei a um questionário de 7 questões sobre as características dos felinos. Fui informado de que o conhecimento gerado pela pesquisa auxiliará na redução dos impactos da leptospirose, toxoplasmose e citauxzoonose em felinos do município de Araguaína-TO. Também estou ciente de que existem situações desconfortantes tais como a resposta sobre as características do felino, o desconforto da retirada de sangue dos felinos, bem como sua eventual contenção física e possibilidade de ferimentos dos animais. Fui devidamente informado que poderei contatar o pesquisador responsável durante 24 horas por dia mediante o telefone, e-mail ou pessoalmente no endereço descrito abaixo sobre qualquer ocorrência ou dúvida que possivelmente tenha relação com a pesquisa. Uma cópia do Termo

de consentimento Livre e esclarecido será oferecida a mim e que outra cópia ficará sob a guarda do pesquisador responsável.

Estou ciente e autorizo a realização dos procedimentos acima citados e a utilização dos dados originados desses procedimentos para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras, e divulgados de forma global não sendo identificado nenhum proprietário ou animal participante do estudo, sendo mantidas em sigilo informações relacionadas à minha privacidade, bem como garantido meu direito de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de dúvidas acerca dos procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, além de que se cumpra a legislação em caso de dano.

Também fui informado da possibilidade de retirar o meu consentimento a qualquer hora e deixar de participar do estudo sem que isso traga qualquer prejuízo à minha pessoa. Desta forma, concordo voluntariamente e dou meu consentimento, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação.

Eu, \_\_\_\_\_, após ter lido e entendido as informações e esclarecido todas as minhas dúvidas referentes a este estudo com o Pesquisador Responsável pela Pesquisa Taiã Mairon Peixoto Ribeiro, CONCORDO VOLUNTARIAMENTE em participar da pesquisa, que o questionário da pesquisa seja aplicado apenas junto a minha pessoa e que sejam coletados 4 mL de sangue dos felinos de minha propriedade.

Araguaína-TO, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Eu, **Taiã Mairon Peixoto Ribeiro**, declaro que forneci todas as informações referentes ao estudo ao participante da pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Taiã Mairon Peixoto Ribeiro (Pesquisador Responsável)

**Médico Veterinário** CRMV-TO 1298

Para maiores esclarecimentos, entrar em contato com os pesquisadores nos endereços abaixo relacionados:

|           |  |         |   |
|-----------|--|---------|---|
| Nome:     | Taiã Mairon Peixoto Ribeiro  |         |   |
| Endereço: | Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, BR 153 KM 112, s/n. |         |   |
| Bairro:   | Zona Rural   |         |   |
| Cidade:   | Araguaína  | UF:     | TO  |
| Fones:    | (63) 3416-5415   | e-mail: | ribeiromedvet@hotmail.com<br>ribeiro.vet@uft.edu.br |



**ANEXO IV – Questionário Epidemiológico**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**



**Projeto de Pesquisa: “DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DE PATÓGENOS INFECTO-CONTAGIOSOS E PARASITÁRIOS EM FELINOS DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS”**

Número do Questionário (Nº Quest.): \_\_\_\_\_

Data de aplicação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

1. Nome do Proprietário: \_\_\_\_\_
2. Endereço e Fone para contato: \_\_\_\_\_
3. Idade: ( ) inferior a seis meses ( ) igual ou acima de seis meses
4. Sexo: Macho ( ) ou Fêmea ( )
5. Raça: \_\_\_\_\_
6. Estilo de vida: ( ) errante ( ) domiciliado
7. Sinais clínicos evidentes: \_\_\_\_\_

Anotações pessoais: \_\_\_\_\_

**ANEXO V – ARTIGO DE REVISÃO:** Aceito para Publicação na Revista Medicina Veterinária (UFRPE), v. 13, n.3, 2019. ISSN: 1809-4678.

### **Infecção por *Cytauxzoon* spp. em felinos domésticos**

Taiã Mairon Peixoto **Ribeiro**<sup>1\*</sup>, Helcileia Dias **Santos**<sup>2</sup>, Thássia Silva **Reis**<sup>2</sup>, Sebastiana Adriana Pereira **Sousa**<sup>1</sup>, Maria Eduarda Chiaradia **Furquim**<sup>3</sup>, Marcos Rogério **André**<sup>3</sup>, Valéria de Sá **Jayne**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil.

<sup>2</sup>. Curso de Medicina Veterinária. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, Araguaína-TO, Brasil.

<sup>3</sup>. Departamento de Patologia Veterinária, Laboratório de Imunoparasitologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal-SP, Brasil.

\*Autor para correspondência/Corresponding author. E-mail: ribeiro.vet@uft.edu.br

### **“Revisão/Review”**

#### **Resumo**

*Cytauxzoon* spp. são piroplasmas hemoparasitos que parasitam espécimes da família Felidae. A cytauxzoonose é uma enfermidade caracterizada principalmente por sinais clínicos inespecíficos e súbitos. Tem como reservatórios os felídeos silvestres, no entanto já existem relatos de parasitemia crônica em felinos domésticos. A transmissão ocorre principalmente por vetores como carrapatos na América do Norte; já na América do Sul, Europa e Ásia os vetores são ainda desconhecidos. A patogenia decorre da fase de esquizogonia do parasito em macrófagos que causa obstrução de vasos sanguíneos. O tratamento é baseado nos cuidados de suporte e a combinação terapêutica de atovaquona associada à azitromicina tem demonstrando bons resultados. A profilaxia consiste na restrição do acesso de gatos domésticos em áreas arborizadas que possuam a presença de carrapatos e no uso de repelentes-acaricidas. Com esta revisão de literatura, objetivou-se analisar os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos que permitam subsidiar o médico veterinário atuar com rapidez em casos suspeitos de cytauxzoonose.

**Palavras-chave:** cytauxzoonose; gatos; Felidae.

#### **Abstract**

*Cytauxzoon* spp. are piroplasms hemoparasites parasitizing specimens of the Felidae family. cytauxzoonosis is a disease characterized mainly by nonspecific and sudden clinical signs. It has as reservoirs the wild felids, however there are already reports of chronic parasitemia in domestic felines. Transmission occurs mainly by vectors such as ticks in North America; already in South America, Europe and Asia the vectors are still unknown. The pathogenesis stems from the schizogony stage of the parasite in macrophages that causes obstruction of blood vessels. Treatment is based on supportive care and the combination therapy of atovaquone associated with azithromycin has shown good results. Prophylaxis consists in restricting the access of domestic cats to woody areas with the presence of ticks and the use of repellent-acaricides. With this literature review, the objective was to analyze the epidemiological, clinical and pathological aspects that allow to subsidize the veterinarian to act quickly in cases suspected of cytauxzoonosis.

**Keywords:** cytauxzoonosis; cats; Felidae.

## **Introdução**

O gato doméstico (*Felis silvestris catus*) constitui uma das espécies de mamíferos mais distribuídas mundialmente devido a sua associação com a espécie humana, estando presente em todos os continentes (Ottoni et al., 2017). De acordo com Driscoll et al. (2009) a população mundial de felinos domésticos é estimada em torno de 600 milhões de espécimes e, segundo Brasil (2015), a população felina brasileira é estimada em 22,1 milhões, sendo utilizados pela sociedade humana principalmente como animal de estimação e como agente no controle de roedores.

Os gatos domésticos podem adquirir patógenos transmitidos por vetores. Dentre eles destaca-se o hemoparasito *Cytauxzoon felis*, o qual está relacionado ao acometimento de febre, depressão, apatia, letargia e icterícia, e a uma alta taxa de letalidade em gatos (Rizzi et al., 2015). A cytauxzoonose é considerada uma enfermidade descrita há 40 anos no continente americano, em especial nos Estados Unidos da América (USA) (Legroux et al., 2017). Adicionalmente, a enfermidade vem se expandindo no continente europeu desde o início do século XXI, com recentes relatos clínicos em felinos domésticos nos países deste continente (Carli et al., 2012; Lloret et al., 2015; Alho et al., 2016). Já no Brasil, o agente foi inicialmente detectado em felinos selvagens (Peixoto et al., 2008; André et al., 2009) e vem sendo detectado, desde então, em felinos domésticos (André et al., 2015; André et al., 2017).

Devido a relevância em medicina felina e a alta taxa de letalidade apresentada por significativa parcela dos animais infectados, objetivou-se a realização de revisão de literatura acerca dos aspectos etiológicos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais desta hemoparasitose.

## **Agente etiológico**

O gênero *Cytauxzoon* spp. pertence à ordem Piroplasmida e família Theileriidae (Criado-Fornelio et al., 2003; Schreeg et al., 2016). Após o repasto sanguíneo de um carrapato infectado, os esporozoítos de *Cytauxzoon felis* adentram diretamente os monócitos e macrófagos de um felídeo, onde sofrem esquizogonia e dão origem à formação de esquizontes maduros que rompem os macrófagos infectados e liberam merozoítos (Tarigo et al., 2013; Reichard et al., 2010; O'Donoghue, 2017). Os merozoítos, por sua vez, entram em eritrócitos e se replicam induzindo à morte celular, resultando em liberação de novos merozoítos na circulação sanguínea, que por sua vez adentram em outros eritrócitos (Tarigo et al., 2013). Alguns merozoítos podem vir a se diferenciar em gametócitos no intestino do vetor após ingestão por carrapatos, onde já no organismo do invertebrado se modificam para corpos raiados que se fundem para gerar um zigoto diploide no intestino do vetor (Wang et al., 2017).

Os zigotos diploides dão origem aos cinetos haploides que migram para glândulas salivares onde se modificam para esporozoítos (Tarigo et al., 2013; Wang et al., 2017).

As espécies de carrapatos *Dermacentor variabilis* e *Amblyomma americanum* são até o momento os únicos vetores confirmados de *C. felis*, sendo que a transmissão ocorre por meio de ninfas e adultos de carrapatos infectados (transestadial), e não há transmissão transovariana (Blouin et al., 1984; Reichard et al., 2009; Reichard et al., 2010; Schreeg et al., 2016). Larvas infectadas, após sofrerem ecdise e se transformarem em ninfas permanecem infectivas, demonstrando a transmissão transestadial de *C. felis* (Allen et al., 2019). É necessário um tempo mínimo entre >36h a ≤48h de contato de espécimes adultos de *A. americanum* com o hospedeiro para que haja transmissão de *C. felis* (Thomas et al., 2018). Nos Estados Unidos da América (EUA), Ziemann et al. (2017) constataram, utilizando-se a técnica de reação em cadeia de polimerase convencional (PCR), positividade para *C. felis* em *A. americanum* e *D. variabilis* coletados diretamente na vegetação local da Região Sul de Illinois (EUA).

### **Histórico da doença e epidemiologia**

Casos de cytauxzoonose em felinos foram diagnosticados pela primeira vez entre os anos de 1973-1975 em quatro gatos domésticos do Missouri (USA) com semelhantes perfis epidemiológicos, clínicos e patológicos, evidenciação no exame microscópico de esquizontes de *Cytauxzoon* spp. em tecidos viscerais e presença de inclusões intraeritrocíticas (piroplasmas) nas hemácias dos animais acometidos (Wagner, 1976). Em lincês-vermelhos (*Lynx rufus*), considerados reservatórios de *C. felis* na América do Norte, o parasita apresenta possivelmente uma esquizonia mais limitada, embora existam casos relatados de óbito por cytauxzoonose nesta espécie animal (Blouin et al., 1987; Nietfeld e Pollock, 2002). Embora os espécimes de *Lynx rufus* possam permanecer cronicamente infectados, eles não são imunes a reinfecções com amostras diferentes de *C. felis* (Ziemann et al., 2018).

Embora se acreditasse que sua presença era restrita ao continente americano, casos positivos nos continentes Europeu e Asiático têm sido relatados, como em Portugal (gato doméstico, *Felis silvestris catus*), França (*F. silvestris catus*), Itália (*F. silvestris catus* e gato bravo europeu, *F. silvestris silvestris*), Romênia (Lince Euroasiático, *Lynx lynx* e *F. silvestris silvestris*), Espanha (lince Ibérico, *Lynx pardinus* e *F. silvestris catus*), Suíça (*F. silvestris catus*), Alemanha (tigre, *Panthera tigris*), Bósnia e Herzegovina (*F. silvestris silvestris*), Zimbábue (leão, *Panthera leo*), Irã (*F. silvestris catus* e *Felis silvestris* sp.), Mongólia (gato de pallas, *Otocolobus manul*), China (*F. silvestris catus*) e em outras espécies que não pertencem à família Felidae, como no Japão (urso marrom de Hokkaido, *Ursus arctos yesoensis*) e África

do Sul (*Suricata suricatta*) (Jakob e Wesemeier, 1996; Ketz-Riley et al., 2003; Reichard et al., 2005; Joyner et al., 2007; Criado-Fornelio et al., 2009; Meli et al., 2009; Jinnai et al., 2010; Carli et al., 2012; Carli et al., 2014; Kelly et al., 2014; LeClaire et al., 2014; Rassouli et al., 2015; Zaeemi et al., 2015; Alho et al., 2016; Gallusová et al., 2016; Veronesi et al., 2016; Díaz-Regañón et al., 2017; Legroux et al., 2017; Hodžić et al., 2018; Nentwig et al., 2018; Zou et al., 2019).

No Brasil, foi constatada positividade para *Cytauxzoon* sp. em diversas espécies, sendo sugerido por Furtado et al. (2017) que a onça-pintada (*Panthera onca*) pode ser um reservatório (Quadro 1).

**Quadro 1.** Felídeos infectados por *Cytauxzoon* spp. no Brasil entre 2007-2018.

| Nome científico/<br>Nome Popular                     | Teste Diagnóstico                              | Cidade-Estado ou<br>Região   | Nº de Positivos/<br>Nº de Animais<br>Testados | Referência                         |
|--|--|------------------------------|---|------------------------------------|
| Gato doméstico ( <i>Felis<br/>silvestris catus</i> ) | Esfregaço<br>sanguíneo                         | Rio de Janeiro-RJ /<br>2002  | 6/38  | Mendes-de-Almeida<br>et al. (2007) |
|  |  | Rio de Janeiro-RJ /<br>2003  | 17/47   |                                    |
|  |  | Rio de Janeiro-RJ /<br>2004  | 24/33   |                                    |
| Gato doméstico ( <i>Felis<br/>silvestris catus</i> ) | PCR  | Areal-RJ                     | 1/1   | Maia et al. (2013)                 |
| Gato doméstico ( <i>Felis<br/>silvestris catus</i> ) | PCR  | Campo Grande-MS              | 1/151   | André et al. (2015)                |
| Gato doméstico ( <i>Felis<br/>silvestris catus</i> ) | PCR  | Mossoró-RN                   | 2/3   | André et al. (2017)                |
| Jaguatirica<br>( <i>Leopardus pardalis</i> )         | PCR  | Brasília-DF                  | 2/3   | André et al. (2009)                |
| Jaguatirica<br>( <i>Leopardus pardalis</i> )         | PCR  | Jundiaí-SP                   | 4/24  | André et al. (2009)                |
| Jaguatirica<br>( <i>Leopardus pardalis</i> )         | PCR  | São Paulo-SP                 | 1/5   | Filoni et al. (2012)               |
| Jaguatirica<br>( <i>Leopardus pardalis</i> )         | PCR  | Santarém-<br>PA/Rurópolis-PA | 1/1   | Soares et al. (2017)               |
| Jaguatirica<br>( <i>Leopardus pardalis</i> )         | PCR  | Corumbá-MS                   | 4/7   | De Sousa et al. (2018)             |
| Leão ( <i>Panthera leo</i> )                         | Histopatológico e<br>Microscopia<br>Eletronica | Volta Redonda-RJ             | 1/1   | Peixoto et al. (2007)              |
| Onça ( <i>Panthera onca</i> )                        | PCR  | Brasília-DF                  | 1/1   | André et al. (2009)                |
| Onça ( <i>Panthera onca</i> )                        | PCR  | Pantanal                     | 44/44   | Furtado et al. (2017)              |
|  |  | Cerrado                      | 22/22   |                                    |
|  |  | Amazônia                     | 3/4   |                                    |
| Onça-parda ( <i>Puma<br/>concolor</i> )              | PCR  | Brasília-DF                  | 2/3   | André et al. (2009)                |
| Onça-parda ( <i>Puma<br/>concolor</i> )              | PCR  | Campo Grande-MS              | 1/1   | Antunes et al. (2018)              |

No Brasil, assim como na Europa e Ásia, ainda permanecem desconhecidos os vetores de *Cytauxzoon* sp. (Peixoto et al., 2007; André et al. 2015; Alvarado-Rybak et al., 2016; André et al., 2017).

Acreditava-se que a letalidade em gatos domésticos seria de 100%, no entanto tem-se observado a presença de portadores crônicos da enfermidade com longo período de hemoparasitemia (15 meses ou mais) (Meinkoth et al., 2000; Rizzi et al., 2015).

Alguns autores sugerem que *C. felis* seja mais virulento do que *Cytauxzoon* sp. amostra europeia, pois não há relatos de esquizogonia em casos clínicos na Europa (Nentwig et al., 2018). Adicionalmente, *Cytauxzoon* sp. amostra europeia tem maior proximidade genética ao *Cytauxzoon* sp. encontrado no Velho Mundo (Carli et al., 2012; Lloret et al., 2015; Legroux et al., 2017).

Existe uma proximidade genética maior entre as espécies de *Cytauxzoon* spp. encontradas no Brasil e na América do Norte do que entre a Europa e América do Norte (Carli et al., 2012; André et al., 2015; Furtado et al., 2017; Soares et al., 2017). A patogenicidade dos genótipos de *Cytauxzoon* sp. no Brasil permanece desconhecida (Maia et al., 2013; André et al., 2015).

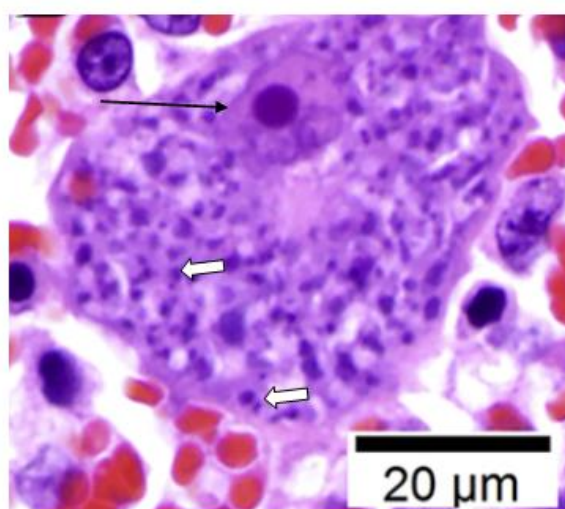
Pesquisas já foram realizadas na tentativa de verificar a transmissão vertical por *Cytauxzoon* spp., todavia ainda não foi observada a transmissão transplacentária nestes estudos (Weisman et al., 2007; Lewis et al., 2012). Não foi verificada a transmissão pela ingestão de carrapatos infectados com *Cytauxzoon felis* por gatos domésticos em estudo conduzido por Thomas et al. (2018). Estudos sugerem que não há associação com raça, idade, presença ou ausência de retrovírus ou gênero na infecção por *Cytauxzoon* spp. nos animais, mas sim, em relação com o acesso ao ambiente externo ao domicílio, próximo ou dentro de áreas com pastagens, com arborização e presença de reservatórios silvestres (Meinkoth et al., 2000; Reichard et al., 2008; Carli et al., 2012; Raghavan et al., 2014).

## **Patogenia**

A patogênese da cytauxzoonose está diretamente relacionada à fase de esquizogonia, pois os esporozoítos, ao infectarem células mononucleares associadas ao endotélio vascular sofrem replicação desenvolvendo grandes estruturas conhecidas como esquizontes, e assim obstruem vasos sanguíneos em vários órgãos. De fato, a presença de esquizontes em macrófagos mostra-se um achado laboratorial patognômico da doença (Meinkoth e Kocan, 2005; Shock et al., 2011; Lloret et al., 2015). Schreeg et al. (2016) sugeriram que *Cytauxzoon* sp. induza a macrófagos e monócitos infectados a não morrer por apoptose, enquanto os

esquizontes se replicam e formam merozoítos infectantes. Podem ocorrer diferentes expressões de genes durante a fase de esquizogonia, o que poderia resultar em diferentes graus de patogenicidades entre as amostras de *C. felis* (Pollard et al., 2017).

Os *imprints* de órgãos e lâminas histopatológicas (derivados de tecidos coletados por biópsia ou necrópsia), especialmente de pulmão e baço, podem evidenciar que macrófagos quando infectados com *Cytauxzoon* spp. tornam-se aumentados, com um nucléolo grande e proeminente (Cohn, 2011). Inicialmente, o esquizonte é azul pequeno, lobulado e mal definido no espaço intracitoplasmático e, à medida que vai amadurecendo, tornam-se pequenos (Figura 1), com áreas nucleares roxas dentro do esquizonte (Meinkoth e Kocan, 2005).



**Figura 1.** Macrófago contendo esquizontes de *C. felis*, onde observam-se merozoítos (setas brancas) e nucléolo proeminente (setas pretas). Fonte: Adaptado de Khana et al. (2018).

A oclusão vascular e vasculite durante a fase de esquizogonia são reconhecidas como principais mecanismos patofisiológicos da cytauxzoonose, devido a isquemia tecidual nos locais afetados, possibilitando o paciente felino vir à óbito antes da detecção da eritroparasitemia pelos métodos parasitológicos (Meinkoth e Kocan, 2005).

Estudos demonstraram que gatos que sofreram esquizogonia e sobreviveram podem se tornar imunes a uma segunda infecção (Cohn e Birkenheuer, 2012). No entanto, existem relatos de que alguns animais que tiveram cytauxzoonose podem vir a ter uma recidiva da mesma doença após ter se recuperado da infecção aguda (Cohn, 2011).

O aumento do número de eritrócitos contendo piroplasmas pode ser verificado após o início de tratamento de linfoma intestinal, sugerindo que a imunossupressão pode exacerbar a parasitemia (Rizzi et al., 2015).

A transfusão de sangue de um gato cronicamente infectado para um gato indene pode resultar em doença ou não, existindo sempre um risco de que a parasitemia pode preceder o aparecimento dos sinais clínicos (Wardrop et al., 2016). Enquanto a inoculação de tecidos contendo esquizontes é associada a quadros graves da doença, a inoculação de merozoítos intra-eritrocíticos resulta apenas em leve parasitemia, mas não resulta em esquizogonia (Cohn e Birkenheuer, 2012). Por outro lado, outros pesquisadores acreditam que a eritroparasitemia não confere imunidade ao hospedeiro felino, que pode ir ao óbito quando desafiado com a inoculação de tecidos com esquizontes (Meinkoth et al., 2000; Meinkoth e Kocan, 2005).

São observados altos títulos de anticorpos perto do pico de parasitemia e acredita-se que esquizontes de *C. felis* induzam imunidade competente para debelar infecção esquizônica de *C. felis* (Cowell et al., 1988). No entanto, piroplasmas em hemácias não são detectáveis em esfregaços sanguíneos na fase aguda (esquizogonia) da enfermidade, a qual precede a eritroparasitemia (Wang et al., 2017).

### **Sinais clínicos**

A febre acentuada é o achado clínico mais comum, contudo em gatos moribundos e em estágio final a temperatura poderá cair, tendo geralmente uma apresentação clínica em forma de síndrome febril aguda (febre entre 39,4 °C - 41,6°C) (Wagner et al., 1980; Cohn, 2011; Lloret et al., 2015). Podem ser observados ao exame físico e anamnese sinais não específicos, tais como letargia, desidratação, icterícia, anorexia, dispneia, taquipneia, vocalização, mucosas pálidas ou ictericas, pneumonia e edema pulmonar (Wagner et al., 1980; Meinkoth, 2000; Meinkoth e Kocan, 2005; Snider et al., 2010; Cohn e Birkenheuer, 2012; Clarke e Rissi, 2015).

Tais alterações podem evoluir para a cronicidade com sinais neurológicos como panuveíte hemorrágica, ataxia, nistagmo, perda de consciência, convulsões, urina com coloração amarelo-escuro, retardamento no tempo de preenchimento capilar, hipotermia, hiperestesia na palpação muscular, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenomegalia, estado apático e coma (Wagner et al., 1980; Meinkoth, 2000; Meinkoth e Kocan, 2005; Snider et al., 2010; Cohn, 2011; Cohn e Birkenheuer, 2012; Clarke e Rissi, 2015; Meekins e Cino-Ozuna, 2018).

O período médio de incubação é de 10 a 15 dias, variando de cinco dias a até 21 dias; contudo, muitos gatos morrem antes mesmo de aparecerem os primeiros sinais clínicos (Rizzi et al., 2015; Wang et al., 2017; Allen et al., 2019). Após a detecção dos primeiros sinais clínicos os paciente felinos podem vir à óbito em 24 horas ou em até sete dias (Nagamori et al., 2016). Os achados clínicos e o histórico, especialmente a síndrome febril, não são patognômicos para



cytauxzoonose felina, por isso diversas doenças devem ser levadas em conta no momento do diagnóstico.

No Brasil, casos confirmados de cytauxzoonose foram confirmados somente em *Panthera leo* no estado do Rio de Janeiro, por meio de diagnóstico histopatológico (Peixoto et al., 2007). Em gatos domésticos, a despeito da detecção do agente por esfregaços sanguíneos (piroplasmas em eritrócitos) (André et al., 2017) e métodos moleculares (André et al., 2015, André et al., 2017), casos confirmados de cytauxzoonose por meio da observação de esquizontes em macrófagos teciduais ainda são inexistentes.

### **Diagnóstico laboratorial e achados patológicos**

O clínico veterinário poderá utilizar vários recursos de diagnóstico, especialmente, os exames de patologia clínica, histopatologia, exames macroscópicos e diagnóstico por imagem. A radiografia ou ultrassonografia abdominal podem revelar hepatomegalia, esplenomegalia e padrões de pneumonia intersticial, a qual pode ser definida como espessamento das paredes septais alveolares por células inflamatórias ou edema alveolar (Snider et al., 2010; Lloret et al., 2015).

Os sinais encontrados na patologia clínica incluem anemia não regenerativa, pancitopenia, leucopenia, trombocitopenia, hiperbilirrubinemia, bilirrubinúria, azotemia pré-renal, hiperglicemia, elevação das enzimas hepáticas e aumento no tempo de coagulação, especialmente protrombina e baixa atividade da proteína C (Cohn, 2011; Cohn e Birkenheuer, 2012; Lloret et al., 2015).

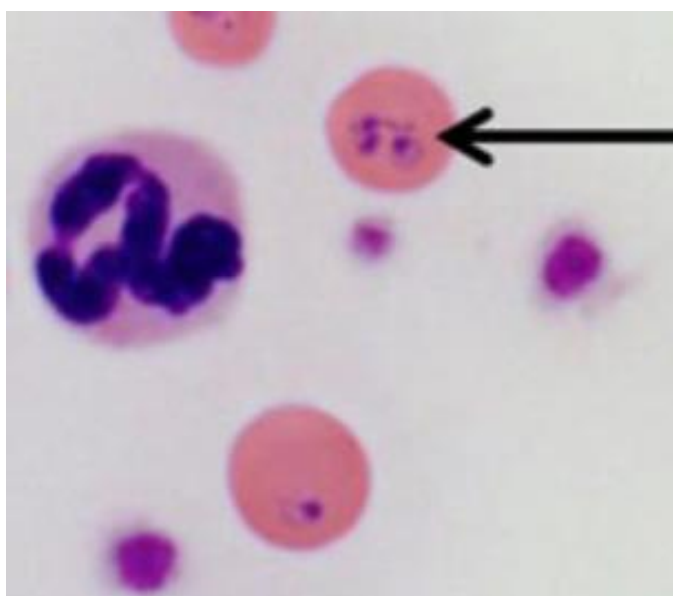
A hiperbilirrubinemia é derivada da hemólise e infiltração intra-hepática de macrófagos contendo esquizontes (Cohn, 2011). Os aspirados de medula óssea, linfonodos, baço e fígado também podem ser usados, evidenciando esquizontes em macrófagos (Meinkoth e Kocan, 2005; Grindem et al., 2008).

O exame de esfregaço sanguíneo para observação de merozoítos intra-eritrocitários é bastante utilizado, mas a limitação deste método é que os níveis de piroplasmas circulantes são baixos, podendo estar ausentes no período inicial da infecção, haja vista que os sinais clínicos causados pela esquizogonia podem preceder a detecção de *Cytauxzoon* spp. nas hemácias (Carli et al., 2014; Lloret et al., 2015). Porém, uma vez que com o prolongamento da doença, é esperado um aumento neste nível de piroplasmas intra-eritrocíticos, devendo ser realizados esfregaços diários para verificar a presença do agente etiológico ou patógeno e evolução da doença (Carli et al., 2014).

A qualidade do diagnóstico parasitológico de *Cytauxzoon* sp. também depende da qualidade do esfregaço sanguíneo, a fim de evitar a formação de artefatos na técnica. As células sanguíneas devem estar dispostas homoganeamente sobre as lâminas a fim de evitar a sobreposição de hemácias. É fundamental proceder a secagem das lâminas antes da coloração para evitar acúmulo de água na lâmina, que resulta em estruturas intra-eritrocíticas que podem ser confundidas com piroplasmídeos (Meinkoth e Kocan, 2005). Os corantes devem ser trocados periodicamente para evitar a formação de precipitados nas lâminas, que se apresentam como manchas entre as células ou sobre as células, sendo diferenciadas de parasitos pela ausência de citoplasma e presença de contornos irregulares (Meinkoth e Kocan, 2005).

Corpúsculos de Howell-Jolly, que são remanescentes de material nuclear intra-eritrocíticos devem ser diferenciados de piroplasmas de *Cytauxzoon* spp. Tais estruturas se apresentam geralmente como pontos únicos, redondos, escuros, com tamanho variável e não possuem citoplasma (Meinkoth e Kocan, 2005; Wang et al., 2017).

Piroplasmas intra-eritrocíticos de *Cytauxzoon* sp. devem ser diferenciados de outros hemoparasitas transmitidos por vetores, tais como hemoplasmas (micoplasmas hemotróficos) e outros piroplasmídeos (*Theileria* spp. e *Babesia* spp.) (Wang et al., 2017). Dentre as diferenças entre *Mycoplasma* spp. e *Cytauxzoon* spp. destaca-se que os micoplasmas são menores, se posicionam na área epitelial e geralmente formam pontos, enquanto que os *Cytauxzoon* spp. apresentam formato de anel e citoplasma visível (Figura 2) (Meinkoth e Kocan, 2005; Cohn, 2011).



**Figura 2.** Hemácias com piroplasmas característicos de *Cytauxzoon* sp. em forma de anel (seta preta) em esfregaço sanguíneo de paciente felino. Fonte: Adaptado de Nentwig et al. (2018).

No Brasil, merozoítos de *Babesia* spp. e *Theileria* spp. devem ser distinguidos daqueles de *Cytauxzoon* spp., haja vista a ocorrência dos três gêneros de piroplasmídeos em felinos domésticos em nosso território (André et al., 2014; André et al., 2015; Malheiros et al., 2016; André et al., 2017). A fim de um diagnóstico etiológico mais acurado, preconiza-se a utilização de testes moleculares seguida de sequenciamento e posicionamento filogenético (André et al., 2017).

Hemorragias petequiais e equimoses podem ocorrer em vários tecidos, especialmente na superfície pulmonar, além de infiltração neutrofílica e macrofágica em paredes de septos alveolares e no interstício peribronquial (Snider et al., 2010; Aschenbroich et al., 2012). Durante a necropsia podem ser verificadas icterícia difusa, esplenomegalia, baço com coloração vermelha escura, fígado amarelo acastanhado e pulmões com focos hemorrágicos em sua superfície (Aschenbroich et al., 2012).

As alterações histológicas cerebrais incluem macrófagos contendo esquizontes em arteríolas e vênulas parenquimatosas, vasculite e trombos de fibrina, oclusão de capilares na substância cinzenta e branca, com presença de linfócitos, astrocitose, microgliose, astrogliose, microhemorragias múltiplas, neurônios necróticos e potencial indução de apoptose em células do sistema nervoso (Clarke e Rissi, 2015; Clarke et al., 2017).

Existe uma dificuldade técnica em se produzir antígenos purificados para o diagnóstico imunológico, por isso não existe *kit* disponível comercialmente (Shindel et al., 1978; Wagner et al., 1980; Wang et al., 2017). Há limitações nestes testes, pois os gatos, quando em um curso agudo da doença, ainda não desenvolveram anticorpos em nível detectável ou têm títulos baixos de anticorpos antes da morte (Cohn e Birkenheuer, 2012).

Os ensaios de PCR podem chegar a ser até 1000 vezes mais sensíveis do que a análise do esfregaço sanguíneo por microscopia de luz, sendo aplicável para confirmação de suspeita clínica na ausência ou em níveis baixos de eritroparasitemia, e para monitorar infecções em gatos que sobreviveram a uma infecção aguda (Brown et al., 2008; Wang et al., 2017).

A PCR em tempo real pode ser utilizada no prognóstico da cytauxzoonose, uma vez que observaram-se níveis mais baixos de Cq em gatos que sobreviveram à infecção do que em gatos que foram a óbito (Lloret et al., 2015; Cohn et al., 2011). Os ensaios da PCR utilizam como genes-alvo o 18S rRNA (Birkenheuer et al., 2006) e as regiões intergênicas ITS-1 e ITS-2 Shock et al., 2012).

A PCR pode auxiliar ainda na diferenciação de patógenos que podem ter morfologia semelhantes a de *Cytauxzoon* spp., haja vista que patógenos do gênero *Babesia* spp. (Spada et

al., 2014; André et al., 2014; 2015; Malheiros et al., 2016) e *Theileria* spp. (André et al., 2014; André et al., 2015) já foram detectados em gatos domésticos.

### **Tratamento**

Gatos infectados por *Cytauxzoon* spp. têm um prognóstico grave, portanto deve ser iniciado o tratamento para todos os gatos suspeitos antes da confirmação do diagnóstico etiológico (Cohn et al., 2011; Conner et al., 2015; Sherrill et al., 2015).

A associação de atavaquona (15 mg / kg, via oral, 8-8h, por 10 dias) e azitromicina (10 mg/Kg, via oral, 24-24h, por 10 dias) mostrou bons resultados, com taxa de sobrevivência de 60%. Por outro lado, a utilização de imidocarb (3,5 mg/Kg, via intramuscular, a cada 7 dias, associada com atropina na dose 0,05mg/Kg pela via subcutânea 15 minutos antes da aplicação de imidocarb) mostrou taxa de sobrevivência de 26% (Cohn et al., 2011).

Em pacientes com dor, é ideal que a terapia analgésica seja realizada com o uso de buprenorfina (0,01 mg/kg, via intravenosa 8-8h), além do uso de heparina (200 UI/kg via subcutânea, 8-8h) como profilática ou terapêutica para coagulação intravascular disseminada (Lloret et al., 2015; Sherrill et al., 2015).

A transfusão sanguínea pode ser utilizada em casos de anemia, e em casos de taquipneia e dispneia é necessária a suplementação de oxigênio (Wardrop et al., 2016; Sherrill et al., 2015).

### **Profilaxia**

Não há nenhuma vacina comercialmente disponível até o momento, embora já tenham sido conduzidos estudos que demonstraram que os produtos dos genes *cf30*, *cf63*, *cf58* e *cf76* de *C. felis* podem ser os primeiros antígenos a serem utilizados em vacinas (Tarigo et al., 2013; Khana et al., 2018). Outra limitação para o desenvolvimento de vacinas é que ainda não foi obtido êxito no cultivo in vitro de *C. felis* (Schreeg et al., 2018).

A prevenção é mais focada na repelência de carrapatos nos gatos com o uso de fipronil de uso tópico, colar acaricida com associação de imidacloprida 10% associada à flumetrina 4,5% ou solução tópica de selamectina associada a sarolaner (Reichard et al., 2013; Sherrill et al., 2015; Reichard et al., 2018; Zou et al., 2019).

### **Considerações Finais**

Antes tida como uma doença com letalidade próxima de 100%, atualmente já se observa que existem gatos que podem sobreviver à infecção aguda, tendo como base os cuidados de suporte e associações de fármacos anti-protozoários. Parasitemia baixa e persistente em gatos domésticos no Brasil pode sugerir uma baixa patogenicidade da espécie de *Cytauxzoon* sp. na América do Sul, a despeito da proximidade filogenética de sequências parciais do gene 18S rRNA de amostras brasileiras de *Cytauxzoon* sp. quando comparadas àquelas de isolados de *C. felis* dos EUA.

A cytauxzoonose necessita não somente de tratamentos terapêuticos, mas também de medidas profiláticas, de modo com que seja reduzida ou afastada a exposição dos felídeos aos vetores. Em regiões nas quais ainda não se identificaram os vetores, estudos posteriores deverão identificar quais os potenciais vetores.

Portanto, observa-se que os parasitas do gênero *Cytauxzoon* spp. vem apresentando uma expansão na sua área de ocorrência, devido principalmente ao diagnóstico por biologia molecular que tem se aperfeiçoado e se tornado acessível em diversas partes do mundo.

Uma atenção especial deve ser dada a pacientes da família Felidae que tenham sinais de apatia, febre alta, anorexia e uma evolução rápida da doença, especialmente quando se tem dados epidemiológicos favoráveis à ocorrência de exposição a artrópodes vetores. Destaca-se que quanto mais rapidamente forem estabelecidos cuidados veterinários de suportes e terapêutica, maiores as possibilidades de sobrevivência do paciente.

## Referências

- Allen, K.E.; Thomas, J.E.; Wohltjen, M.L.; Reichard, M.V. Transmission of *Cytauxzoon felis* to domestic cats by *Amblyomma americanum* nymphs. **Parasites & Vectors**, 12: 28, 2019.
- Alho, A.M.; Silva, J.; Fonseca, M.J.; Santos, F.; Nunes, C.; De Carvalho, L.M.; Rodrigues, M.; Cardoso, L. First report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat from Portugal. **Parasites & Vectors**, 9: 220, 2016.
- Alvarado-Rybak, M.; Solano-Gallego, L.; Millán, J. A review of piroplasmid infections in wild carnivores worldwide: importance for domestic animal health and wildlife conservation. **Parasites & Vectors**, 9(1): 538, 2016.
- André, M.R.; Adania, C.H.; Machado, R.Z.; Allegretti, S.M.; Felipe, P.A.N.; Silva, K.F.; Nakaghi, A.C.H.; Dagnone, A.S. Molecular detection of *Cytauxzoon* spp. in asymptomatic Brazilian wild captive felids. **Journal of Wildlife Diseases**, 45(1): 234-237, 2009.
- André, M.R.; Denardia, N.C.B.; De Sousa, K.C.M.; Gonçalves, L.R.; Henrique, P.C.; Ontivero, C.R.G.R.; Gonzalez, I.H.L.; Nery, C.V.C.; Chagas, C.R.F.; Monticelli, C.; De Santis, C.G.A.; Machado, R.Z. Arthropod-borne pathogens circulating in free-roaming domestic cats in a zoo environment in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 5(5): 545-551, 2014.
- André, M.R.; Herrera, H.M.; Fernandes, S.J.; Sousa, K.C.; Gonçalves, L.R.; Domingos, I.H.; De Macedo, G.C.; Machado, R.Z. Tick-borne agents in domesticated and stray cats from the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, midwestern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 6(6): 779-786, 2015.
- André, M.R.; Filgueira, K.D.; Calchi, A.C.; Sousa, K.C.M.; Gonçalves, L.R.; Medeiros, V.B.; Ximenes, P.A.; Lelis, I.C.N.G.; Meireles, M.V.N.; Machado, R.Z. Co-infection with arthropod-borne pathogens in domestic cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 26(4): 525-531, 2017.
- Antunes, T.R.; Da Silveira, A.W.; De Oliveira, G.G.; Rezende, A.S.; Azuaga, L.B.S.; De Souza, M.L.; De Oliveira, D.R.; Netto, C.R.M.C.; Godoy, K.C.S.; Ramos, C.A.N.; De Souza, A.I. Infecção natural por *Cytauxzoon felis* em onça parda (*Puma concolor*) de vida livre proveniente da região sudoeste de Mato Grosso do Sul, Brasil. **PUBVET**, 12(1): 1-5, 2018.
- Aschenbroich, S.A.; Rech, R.R.; Sousa, R.S.; Carmichael, K.P.; Sakamoto, K. Pathology in practice: *Cytauxzoon felis* infection. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 240(2): 159-161, 2012.
- Birkenheuer, A.J.; Marr, H.; Alleman, A.R.; Levy, M.G.; Breitschwerdt, E.B. Development and evaluation of a PCR assay for the detection of *Cytauxzoon felis* DNA in feline blood samples. **Veterinary Parasitology**, 137(1-2): 144-149, 2006.

- Blouin, E.F.; Kocan, A.A.; Glenn, B.L.; Kocan, K.M.; Hair, J.A. Transmission of *Cytauxzoon felis* Kier, 1979 from bobcats, *Felis rufus* (Schreber), to domestic cats by *Dermacentor variabilis* (Say). **Journal of Wildlife Diseases**, 20(3): 241-242, 1984.
- Blouin, E.F.; Kocan, A.A.; Kocan, K.M.; Hair, J. Evidence of a limited schizogonous cycle for *Cytauxzoon felis* in bobcats following exposure to infected ticks. **Journal of Wildlife Diseases**, 23(3): 499-501, 1987.
- Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde: acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências: Brasil, grandes regiões e unidades da federação**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>>. Acesso em: 14 fev. 2018.
- Brown, H.M.; Latimer, K.S.; Erikson, L.E.; Cashwell, M.E.; Britt, J.O.; Peterson, D.S. Detection of persistent *Cytauxzoon felis* infection by polymerase chain reaction in three asymptomatic domestic cats. **The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 20(4): 485-488, 2008.
- Carli, E.; Trotta, M.; Chinelli, R.; Drigo, M.; Sinigoi, L.; Tosolini, P.; Furlanello, T.; Millotti, A.; Caldin, M.; Solano-Gallego, L. *Cytauxzoon* sp. infection in the first endemic focus described in domestic cats in Europe. **Veterinary Parasitology**, 183(3-4): 343-352, 2012.
- Carli, E.; Trotta, M.; Bianchi, E.; Furlanello, T.; Caldin, M.; Pietrobelli, M.; Solano-Gallego, L. *Cytauxzoon* sp. infection in two free ranging young cats: clinicopathological findings, therapy and follow up. **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, 38(3): 185-189, 2014.
- Clarke, L.L.; Rissi, D.R. Neuropathology of natural *Cytauxzoon felis* infection in domestic cats. **Veterinary Pathology**, 52(6):1167-1171, 2015.
- Clarke, L.L.; Krimer, P.M.; Rissi, D.R. Glial changes and evidence for apoptosis in the brain of cats infected by *Cytauxzoon felis*. **Journal of Comparative Pathology**, 156(2-3): 147-151, 2017.
- Conner, B.J.; Hanel, R.M.; Brooks, M.B.; Cohn, L.A.; Birkenheuer, A.J. Coagulation abnormalities in 5 cats with naturally occurring cytauxzoonosis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, 25(4): 538-545, 2015.
- Cohn, L.A. Infecções por *Cytauxzoon*. In: August, J.R. **Medicina Interna Felina**. 6th Ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, 2011. p. 27-35.
- Cohn, L.A.; Birkenheuer, A.J.; Brunner, J.D.; Ratcliff, E.R.; Craig, A.W. Efficacy of atovaquone and azithromycin or imidocarb dipropionate in cats with acute cytauxzoonosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 25(1): 55-60, 2011.

- Cohn, L.A.; Birkenheuer, A.J. Cytauxzoonosis, In: Greene, C.E, editor. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4 th Ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2012. p. 764-771.
- Cowell, R.L.; Fox, J.C.; Panciera, R.J.; Tyler, R.D. Detection of anticytauxzoon antibodies in cats infected with a *Cytauxzoon* organism from bobcats. **Veterinary Parasitology**, 28(1-2): 43-52, 1988.
- Criado-Fornelio, A.; Martinez-Marcos, A.; Buling-Sarana, A.; Barba-Carretero, J.C. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe. Part II. Phylogenetic analysis and evolutionary history. **Veterinary Parasitology**, 114(3): 173-194, 2003.
- Criado-Fornelio, A.; Buling, A.; Pingret, J.L.; Etievant, M.; Boucraut-Baralon, C.; Alongi, A.; Agnone, A.; Torina, A. Hemoprotezoa of domestic animals in France: prevalence and molecular characterization. **Veterinary Parasitology**, 159(1): 73-76, 2009.
- De Sousa, K.C.M.; Fernandes, M.P.; Herrera, H.M.; Freschi, C.R.; Machado, R.Z.; André, M.R. Diversity of piroplasmids among wild and domestic mammals and ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, 9(2): 245-253, 2018.
- Díaz-Regañón, D.; Villaescusa, A.; Ayllón, T.; Rodríguez-Franco, F.; Baneth, G.; Calleja-Bueno, L.; García-Sancho, M.; Agulla, B.; Sainz, A. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. and *Cytauxzoon* sp. in domestic and stray cats from Madrid, Spain. **Parasites & Vectors**, 10: 112, 2017.
- Driscoll, C.A.; Clutton-Brock, J.; Kitchen, A.C.; O'Brien, E.J. The taming of the domestic cat. Genetic and archaeological findings hint that wildcats became housecats earlier--and in a different place--than previously thought. **Scientific American**, 300 (6): 68-75, 2009.
- Filoni, C.; Catão-Dias, J.L.; Cattori, V.; Willi, B.; Meli, M.L.; Corrêa, S.H.R.; Marques, M.C.; Adania, C.H.; Silva, J.C.R.; Marvulo, M.F.V.; Ferreira Neto, J.S.; Durigon, E.L.; De Carvalho, V.M.; Coutinho, S.D.; Lutz, H.; Hofmann-Lehmann, R. Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropic and exotic felids. **The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 24(1): 166-173, 2012.
- Furtado, M.M.; Taniwaki, S.A.; Metzger, B.; Dos Santos Paduan, K.; O'Dwyer, H.L.; De Almeida Jácomo, A.T.; Porfírio, G.E.O.; Silveira, L.; Sollmann, R.; Tôres, N.M.; Ferreira Neto, J.S. Is the free-ranging jaguar (*Panthera onca*) a reservoir for *Cytauxzoon felis* in Brazil? **Ticks and Tick-borne Diseases**, 8(4): 470-476, 2017.
- Gallusová, M.; Jirsová, D.; Mihalca, A.D.; Gherman, C.M.; D'Amico, G.; Qablan, M.A.; Modrý, D. *Cytauxzoon* infections in wild felids from Carpathian-Danubian-Pontic space:



- further evidence for a different *Cytauxzoon* species in European felids. **Journal of Parasitology**, 102(3): 377-380, 2016.
- Grindem, C.B.; Tyler, R.D.; Cowell, R.L. The Bone marrow. In: Cowell, R.L.; Tyler, R.D.; Meinkoth, J.H.; De Nicola, D.B. **Diagnostic citology and hematology of the dog and cat**. 3<sup>rd</sup> Ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2008. p. 422-450.
- Hodžić, A.; Alić, A.; Duscher, G.G. High diversity of blood-associated parasites and bacteria in European wild cats in Bosnia and Herzegovina: A molecular study. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 9(3): 589-593, 2018.
- Jakob, W.; Wesemeier, H.H. A fatal infection in a bengal tiger resembling cytauxzoonosis in domestic cats. **Journal of Comparative Pathology**, 114(4): 439-444, 1996.
- Jinnai, M.; Kawabuchi-Kurata, T.; Tsuji, M.; Nakajima, R.; Hirata, H.; Fujisawa, K.; Shiraki, H.; Asakawa, M.; Nasuno, T.; Ishihara, C. Molecular evidence of the multiple genotype infection of a wild Hokkaido brown bear (*Ursus arctos yesoensis*) by *Babesia* sp. UR1. **Veterinary Parasitology**, 173(1-2): 128-133, 2010.
- Kelly, P.; Marabini, L.; Dutlow, K.; Zhang, J.; Loftis, A.; Wang, C. Molecular detection of tick-borne pathogens in captive wild felids, Zimbabwe. **Parasites & Vectors**, 7: 514, 2014.
- Ketz-Riley, C.J.; Reichard, M.V.; Van Den Bussche, R.A.; Hoover, J.P.; Meinkoth, J.; Kocan, A.A. An Intraerythrocytic Small Piroplasm In Wild-caught Pallas's Cats (*Otocolobus manul*) from Mongolia. **Journal of Wildlife Diseases**, 39(2): 424-430, 2003.
- Khana, D.B.; Peterson D.S.; Stanton, J.B.; Schreeg, M.E.; Birkenheuer, A.J.; Tarigo, J.L. Genetic conservation of *Cytauxzoon felis* antigens and mRNA expression in the schizont life-stage. **Veterinary Parasitology**, 263: 49-53, 2018.
- LeClaire, S.; Menard, S.; Berry, A. Molecular characterization of *Babesia* and *Cytauxzoon* species in wild South-African meerkats. **Parasitology**, 142(4): 543-548, 2014.
- Legroux, J-P.; Halos, L.; René-Martellet, M.; Servonnet, M.; Pingret, J-L.; Bourdoiseau, G.; Baneth, G.; Chabanne, L. First clinical case report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat in France. **BMC Veterinary Research**, 13: 81, 2017.
- Lewis, K.M.; Cohn, L.A.; Birkenheuer, A.J. Lack of evidence for perinatal transmission of *Cytauxzoon felis* in domestic cats. **Veterinary Parasitology**, 188(1-2): 172-174, 2012.
- Lloret, A.; Addie, D.D.; Boucraut-Baralon, C.; Egberink, H.; Frymus, T.; Gruffydd-Jones, T.; Hartmann, K.; Horzinek, M.C.; Hosie, M.J.; Lutz, H.; Marsilio, F.; Pennisi, M.G.; Radford, A.D.; Thiry, E.; Truyen, U.; Möstl, K. Cytauxzoonosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 17(7): 637-641, 2015.

- Maia, L.M.P.; Cerqueira, A.M.F.; Macieira, D.B.; De Souza, A.M.; Moreira, N.S.; Da Silva, A.V.; Messick, J.B.; Ferreira, R.F.; Almosny, N.R.P. *Cytauxzoon felis* and 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' coinfection in a Brazilian domestic cat (*Felis catus*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 22(2): 289-291, 2013.
- Malheiros, J.; Costa, M.M.; do Amaral, R.B.; de Sousa, K.C.M.; André, M.R.; Machado, R.Z.; Vieira, M.I.B. Identification of vector-borne pathogens in dogs and cats from Southern Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases**, 7(5): 893-900, 2016.
- Meekins, J.; Cino-Ozuna A.G. Histologic identification of intraocular *Cytauxzoon felis* in three cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, 4(2): 1-5, 2018.
- Meinkoth, J.; Kocan, A.A, Whitworth, L.; Murphy, G.; Fox, J.C.; Woods, J.P. Cats surviving natural infection with *Cytauxzoon felis*: 18 cases (1997-1998). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 14(5): 521-525, 2000.
- Meinkoth, J.H.; Kocan, A.A. Feline cytauxzoonosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal**, 35(1): 89-101, 2005.
- Meli, M.L.; Cattori, V.; Martínez, F.; López, G.; Vargas, A.; Simón, M.A.; Zorrilla, I.; Muñoz, A.; Palomares, F.; López-Bao, J.V.; Pastor, J.; Tandon, R.; Willi, B.; Hofmann Lehmann, R.; Lutz, H. Feline leukemia virus and other pathogens as important threats to the survival of the critically endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). **PLoS One**, 4(3): e4744, 2009.
- Mendes-de-Almeida, F.; Labarthe, N.; Guerrero, J.; Faria, M.C.; Branco, A.S.; Pereira, C.D.; Barreira, J.D.; Pereira, M.J. 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**, 147(1-2): 9-15, 2007.
- Nagamori, Y.; Slovak, J.E.; Reichard, M.V.; Prevalence of *Cytauxzoon felis* infection in healthy free-roaming cats in north-central Oklahoma and central Iowa. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, 2(1): 1-4, 2016.
- Nentwig, A.; Meli, M.L.; Schrack, J.; Reichler, I.M.; Riond, B.; Gloor, C.; Howard, J.; Hofmann-Lehmann, R.; Willi, B. First report of *Cytauxzoon* sp. infection in domestic cats in Switzerland: natural and transfusion-transmitted infections. **Parasites & Vectors**, 11(1): 292, 2018.
- Nietfeld, J.C.; Pollock, C. Fatal cytauxzoonosis in a free-ranging Bobcat (*Lynx rufus*). **Journal of Wildlife Diseases**, 38(3): 607-610, 2002.
- O'Donoghue, P. Haemoprotozoa: Making biological sense of molecular phylogenies. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, 6(3): 241-256, 2017.

- Otoni, C.; Neer, W.V.; De Cupere, B.; Daligault, J.; Guimarães, S.; Peters, J.; Spassov, N.; Prendergast, M.E.; Boivin, N.; Morales-Muñoz, A.; Bălăşescu, A.; Becker, C.; Benecke, N.; Boroneant, A.; Buitenhuis, H.; Chahoud, J.; Crowther, A.; Llorente, L.; Manaseryan, N.; Monchot, H.; Onar, V.; Osypińska, M.; Putelat, O.; Morales, E.M.Q.; Studer, J.; Wierer, U.; Decorte, R.; Grange, T.; Geigl, E-M. The palaeogenetics of cat dispersal in the ancient world. **Nature Ecology and Evolution**. 1(7): 0139, 2017.
- Peixoto, P.V.; Soares, C.O.; Scofield, A.; Santiago, C.D.; Franca, T.N.; Barros, S.S. Fatal cytauxzoonosis in captive-reared lions in Brazil. **Veterinary Parasitology**, 145(3-4): 383-387, 2007.
- Pollard, D.A.; Reichard, M.V.; Cohn, L.A.; James, A.M.; Holman, P.J. Genetic variability of cloned *Cytauxzoon felis* ribosomal RNA ITS1 and ITS2 genomic regions from domestic cats with varied clinical outcomes from five states. **Veterinary Parasitology**, 244: 136-143, 2017.
- Raghavan, R.K.; Almes, K.; Goodin, D.G.; Harrington Junior, J.A.; Stackhouse Junior, P.W. Spatially heterogeneous land cover/land use and climatic risk factors of tick-borne feline cytauxzoonosis. **Vector-Borne And Zoonotic Diseases**, 14(7): 486-495, 2014.
- Rassouli, M.; Sabouri, S.; Goudarzi, A.; Parsa, M. *Cytauxzoon felis* in a stray cat in Iran. **Comparative Clinical Pathology**, 24(1): 75-77, 2015.
- Reichard, M.V.; Van Den Bussche, R.A.; Meinkoth, J.H.; Hoover, J.P.; Kocan, A.A. A new species of *Cytauxzoon* from pallas' cats caught in Mongolia and comments on the systematics and taxonomy of piroplasmids. **Journal of Parasitology**, 91(2): 420-426, 2005.
- Reichard, M.V.; Baum, K.A.; Cadenhead, S.C.; Snider, T.A. Temporal occurrence and environmental risk factors associated with cytauxzoonosis in domestic cats. **Veterinary Parasitology**, 152(3-4): 314-320, 2008.
- Reichard, M.V.; Meinkoth, J.H.; Edwards, A.C.; Snider, T.A.; Kocan, K.M.; Blouin, E.F.; Little, S.E. Transmission of *Cytauxzoon felis* to a domestic cat by *Amblyomma americanum*. **Veterinary Parasitology**, 161(1-2): 110-115, 2009.
- Reichard, M.V.; Edwards, A.C.; Meinkoth, J.H.; Snider, T.A.; Meinkoth, K.R.; Heinz, R.E.; Little, S.E. Confirmation of *Amblyomma americanum* (acari: ixodidae) as a vector for *Cytauxzoon felis* (piroplasmorida: theileriidae) to domestic cats. **Journal of Medical Entomology**, 47(5): 890-896, 2010.
- Reichard, M.V.; Thomas, J.E.; Arther, R.G.; Hostetler, J.A.; Raetzl, K.L.; Meinkoth, J.H.; Little, S.E. Efficacy of an imidacloprid 10 % / flumethrin 4.5 % collar (Seresto®, Bayer) for

- preventing the transmission of *Cytauxzoon felis* to domestic cats by *Amblyomma americanum*. **Parasitology Research**, 112 (Suplemento 1): 11-20, 2013.
- Reichard, M.V.; Rugg, J.J.; Thomas, J.E.; Allen, K.E.; Barret, A.W.; Murray, J.K.; Herrin, B.H.; Beam, R.A.; King, V.L.; Vatta, A.F. Efficacy of a topical formulation of selamectin plus sarolaner against induced infestations of *Amblyomma americanum* on cats and prevention of *Cytauxzoon felis* transmission. **Veterinary Parasitology**, 2018. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.10.018 (aceito com doi).
- Rizzi, T.E.; Reichard, M.V.; Cohn, L.A.; Birkenheuer, A.J.; Taylor, J.D.; Meinkoth, J.H. Prevalence of *Cytauxzoon felis* infection in healthy cats from enzootic areas in Arkansas, Missouri, and Oklahoma. **Parasites & Vectors**, 8: 13, 2015.
- Schreeg, M.E.; Marr, H.S.; Tarigo, J.L.; Cohn, L.A.; Bird, D.M.; Scholl, E.H.; Levy, M.G.; Wiegmann, B.M.; Birkenheuer, A.J. Mitochondrial genome sequences and structures aid in the resolution of piroplasmida phylogeny. **PLoS One**, 11(11): e0165702, 2016.
- Schreeg, M.E.; Marr, H.S.; Tarigo, J.L.; Sherrill, M.K.; Outi, H.K.; Scholl, E.H.; Bird, D.M.; Vigil, A.; Hung, C.; Nakajima, R.; Liang, L.; Trieu, A.; Doolan, D.L.; Thomas, J.E.; Levy, M.G.; Reichard, M.V.; Felgner, P.L.; Cohn, L.A.; Birkenheuer, A.J. Identification of *Cytauxzoon felis* antigens via protein microarray and assessment of expression library immunization against cytauxzoonosis. **Clinical Proteomics**, 15: 44, 2018.
- Shindel, N.; Dardiri, A.H.; Ferris, D.H. An indirect fluorescent antibody test for the detection of Cytauxzoon-like organisms in experimentally infected cats. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, 42(4): 460-465, 1978.
- Shock, B.C.; Murphy, S.M.; Patton, L.L.; Shock, P.M.; Olfenbittel, C.; Beringer, J.; Prange, S.; Grove, D.M.; Peek, M.; Butfiloski, J.W.; Hughes, D.W.; Lockhart, J.M.; Bevins, S.N.; Van deWoude, S.; Crooks, K.R.; Nettles, V.F.; Brown, H.M.; Peterson, D.S.; Yabsley, M.J. Distribution and prevalence of *Cytauxzoon felis* in bobcats (*Lynx rufus*), the natural reservoir, and other wild felids in thirteen states. **Veterinary Parasitology**, 175(3-4): 325-330, 2011.
- Shock, B.C.; Birkenheuer, A.J.; Patton, L.L.; Olfenbittel, C.; Beringer, J.; Grove, D.M.; Peek, M.; Butfiloski, J.W.; Hughes, D.W.; Lockhart, J.M.; Cunningham, M.W.; Brown, H.M.; Peterson, D.S.; Yabsley, M.J. Variation in the ITS-1 and ITS-2 rRNA genomic regions of *Cytauxzoon felis* from bobcats and pumas in the eastern United States and comparison with sequences from domestic cats. **Veterinary Parasitology**, 190(1-2): 29-35, 2012.
- Sherrill, M.K.; Cohn, L.A. Cytauxzoonosis: diagnosis and treatment of an emerging disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 17(11): 940-948, 2015.

- Snider, T.A.; Confer, A.W.; Payton, M.E. Pulmonary histopathology of *Cytauxzoon felis* infections in the cat. **Veterinary Pathology**, 47(4): 698-702, 2010.
- Soares, H.S.; Marcili, A.; Barbieri, A.R.M.; Minervino, A.H.H.; Moreira, T.R.; Gennari, S.M.; Labruna, M.B. Novel piroplasmid and *Hepatozoon* organisms infecting the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, 6(2):115-121, 2017.
- Spada, E.; Proverbio, D.; Galluzzo, P.; Perego, R.; De Giorgi, G.B.; Roggero, R.; Caracappa, S. Frequency of Piroplasms *Babesia microti* and *Cytauxzoon felis* in Stray Cats from Northern Italy. **BioMed Research International**, 2014: 1-6. ID 943754, 2014.
- Tarigo, J.L.; Scholl, E.H.; McKBird, D.; Brown, C.C.; Cohn, L.A.; Dean, G.A.; Levy, M.G.; Doolan, D.L.; Trieu, A.; Nordone, S.K.; Felgner, P.L.; Vigil, A.; Birkenheuer, A.J. A novel candidate vaccine for cytauxzoonosis inferred from comparative apicomplexan genomics. **PLoS One**, 8(8): e71233, 2013.
- Thomas, J.E.; Ohmes, C.M.; Payton, M.E.; Hostetler, J.A.; Reichard, M.V. Minimum transmission time of *Cytauxzoon felis* by *Amblyomma americanum* to domestic cats in relation to duration of infestation, and investigation of ingestion of infected ticks as a potential route of transmission. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 20(2): 67-72, 2018.
- Veronesi, F.; Ravagnan, S.; Cerquetella, M.; Carli, E.; Olivieri, E.; Santoro, A.; Pesaro, S.; Berardi, S.; Rossi, G.; Ragni, B.; Beraldo, P.; Capelli, G. First detection of *Cytauxzoon* spp. infection in European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) of Italy. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 7(5): 853-858, 2016.
- Wagner, J.E. A fatal cytauxzoonosis-like disease in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 168(7): 585-588, 1976.
- Wagner, J.E.; Ferris, D.H.; Kier, A.B.; Wightman, S.R.; Maring, E.; Morehouse, L.G.; Hansen, R.D. Experimentally induced cytauxzoonosis-like disease in domestic cats. **Veterinary Parasitology**, 6(4): 305-311, 1980.
- Wang, J.L.; Li, T.T.; Liu, G.H.; Zhu, X.Q.; Yao, C. Two Tales of *Cytauxzoon felis* Infections in Domestic Cats. **Clinical Microbiology Review**, 30(4): 861-885, 2017.
- Wardrop, K.J.; Birkenheuer, A.; Blais, M.C.; Callan, M.B.; Kohn, B.; Lappin, M.R.; Sykes, J. Update on canine and feline blood donor screening for blood-borne pathogens. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 30(1): 15-35, 2016.

- Weisman, J.L.; Woldemeskel, M.; Smith, K.D.; Merrill, A.; Miller, D. Blood smear from a pregnant cat that died shortly after partial abortion. **Veterinary Clinical Pathology**, 36(2): 209-211, 2007.
- Zaemi, M.; Razmi, G.R.; Khoshnegah, J. The first detection of *Cytauxzoon felis* in a wild cat (*Felis silvestris*) in Iran. **Comparative Clinical Pathology**, 24(1): 181-184, 2015.
- Zieman, E.A.; Jiménez, F.A.; Nielsen, C.K. Concurrent Examination of Bobcats and Ticks Reveals High Prevalence of *Cytauxzoon felis* in Southern Illinois. **Journal of Parasitology**, 103(4): 343-348, 2017.
- Zieman, E.A.; Nielsen, C.K.; Jiménez, F.A. Chronic *Cytauxzoon felis* infections in wild-caught bobcats (*Lynx rufus*). **Veterinary Parasitology**, 252(15): 67-69, 2018.
- Zou, F-C.; Li, Z.; Yang, J-F.; Chang, J-Y, Liu, G-H.; Lv, Y., Zhu, X-Q. *Cytauxzoon felis* Infection in Domestic Cats, Yunnan Province, China, 2016. **Emerging Infectious Diseases**, 25(2): 353-354, 2019.

**ANEXO VII - ARTIGO DE REVISÃO:** Publicado na Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 12, n.1, p. 101-109, 2018. ISSN: 1981-2965. Formatado nas normas da Revista

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal  
Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity  
ISSN: 1981-2965



Revisão

## **Infecção por *Leptospira* spp. em Gatos (*Felis silvestris catus*). Uma Revisão**

*Infection by Leptospira spp. in Domestic Cats (Felis silvestris catus). A Review*

**Taiã Mairon Peixoto Ribeiro<sup>1</sup>, Helcileia Dias Santos<sup>2</sup>, Sebastiana Adriana Pereira Sousa<sup>3</sup>, Samara Rocha Galvão<sup>1</sup>, Thássia Silva Reis<sup>2</sup>, Valéria de Sá Jayme<sup>3</sup>**

**Resumo:** Felinos domésticos (*Felis silvestris catus*) podem ser infectados e parasitados por diferentes patógenos. Entre eles encontram-se o gênero bacteriano *Leptospira* spp. que podem infectar felinos e acarretar prejuízos a homeostase do animal e conseqüentemente sobre seu bem-estar. O gato infectado e com uma resposta imune comprometida poderá apresentar principalmente distúrbios renais, mas também sinais hepáticos entre outros. Para controlar, diagnosticar e tratar é necessário que o Médico Veterinário tenha conhecimentos em epidemiologia, diagnóstico e tratamento de leptospirose. O presente estudo objetiva discutir os aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos em relação à infecção por *Leptospira* spp. e da leptospirose. Sabe-se que o gato não é mais considerado uma espécie refratária para leptospirose, portanto, sua epidemiologia e abordagem terapêutica necessita ser mais bem esclarecida.

**Palavras-chave:** Felino, Epidemiologia, Leptospirose, Roedores.

**Abstract:** Domestic felines (*Felis silvestris catus*) can be infected and parasitized by different pathogens. Among them are the bacterial genus *Leptospira* spp. which can infect felines and impair the homeostasis of the animal and consequently its well-being. The infected cat with a compromised immune response may present mainly renal disorders, but also hepatic signs among others. To control, diagnose and treat it is necessary that the Veterinarian has knowledge in epidemiology, diagnosis and treatment of leptospirosis. The present study aims to discuss the epidemiological, clinical and therapeutic aspects regarding the infection by *Leptospira* spp. and leptospirosis. It is known that the cat is no longer considered a refractory species for leptospirosis, therefore, its epidemiology and therapeutic approach needs to be better clarified.

**Keywords.** Feline, Epidemiology, Leptospirosis, Rodents.

Autor para correspondência. E.Mail: \* ribeiro.vet@uft.edu.br

Recebido em 3.1.2016. Aceito em 30.1.2018

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20180011>

1 Médico (a) Veterinário (a). Msc. Curso de Medicina Veterinária. Universidade Federal do Tocantins-UFT. E.Mail: ribeiro.vet@uft.edu.br/ samavitor@uft.edu.br

2 Médica Veterinária. Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. da Universidade Federal do Tocantins- UFT. Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública - PPGSaspt. E.Mail: hdsantos@uft.edu.br/thassiareis@veterinaria.med.br

3 Médica Veterinária, Msc. Doutorando na Universidade Federal de Goiás- UFG. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – PPGCA/EVZ/UFG. E.Mail: dri\_eafa@hotmail.com

4 Médica Veterinária. Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. da Universidade Federal de Goiás- UFG. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – PPGCA/EVZ/UFG. E.Mail: valeria.mg@uol.com.br

## Introdução

Os seres humanos e animais são expostos constantemente a riscos, em especial a patógenos causadores de doenças. Entre os animais com maior contato com seres humanos destaca-se a espécie felina (*Felis silvestris catus*). O mercado *pet* movimenta um volume de negócios significativo no mundo, sendo justificado pelo fato do proprietário poder identificar seu animal de estimação como membro da família.

Uma das doenças de caráter zoonótico mais relevantes globalmente é a leptospirose, causada por diferentes espécies de bactéria do gênero *Leptospira* spp. (Sonja et al., 2014). É considerada uma zoonose que está ressurgindo em países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo associada principalmente a transmissão urbana por meio da expansão da população de ratos (DUPOUEY et al., 2014).

Felinos têm susceptibilidade menor em relação aos cães, sendo escassos os relatos de casos clínicos de leptospirose em gatos em comparação com outras espécies (Van de Maele et al., 2008). No entanto, a clínica de

felinos deve ser objeto de estudos mais aprofundados, pois estudos recentes demonstram fatores divergentes, sendo frequente o relato de distúrbios renais e hepáticos relacionados com a infecção por *Leptospira* spp. (ARBOUR et al., 2012; RODRIGUEZ et al., 2014).

Tendo em vista a importância econômica, social e sanitária da leptospirose, propôs-se a realizar revisão de literatura sobre o tema, dando ênfase aos tópicos de maior relevância para compreensão da infecção por *Leptospira* spp. em felinos domésticos.

## Etiologia da infecção por *Leptospira* spp.

A *Leptospira* spp. é uma bactéria gram-negativa que apresenta características morfológicas únicas no universo bacteriano, pois são em forma de hélice e possuem um órgão locomotor denominado endoflagelo inserido em um filamento axial que permite sua mobilidade, mesmo em meio viscoso, e ainda atravessar tecidos conjuntivais (PICARDEAU, 2013; PICARDEAU, 2017).

Fazem parte do filo das espiroquetas, ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, e o gênero *Leptospira* spp. tem pelo menos 20



espécies e mais de 300 sorovares determinados pela sua estrutura de lipopolissacarídeo, sorovares estes classificados ainda em 20 sorogrupos<sup>36,42</sup> (MOREY et al., 2006; PICARDEAU, 2013; FOUTS et al., 2016).

As espécies do grupo intermediário formam um grupo distinto das espécies de caráter patogênico e saprófita pela análise de sequência do 16S rRNA e sua patogenicidade ainda não está clara (MOREY et al., 2006; PICARDEAU, 2013; FOUTS et al., 2016).

#### **Aspectos gerais da epidemiologia da infecção por *Leptospira* spp.**

Deve-se diferenciar infecção por *Leptospira* spp. de um quadro clínico de leptospirose. A infecção se torna enfermidade a partir do momento em que sinais e sintomas são evidenciados clinicamente, portanto nem toda infecção leptospírica resultará em enfermidade, ainda mais quando tal infecção se dá em hospedeiros de manutenção, também chamados de hospedeiros preferenciais na epidemiologia da leptospirose. Hospedeiros de manutenção são aquelas espécies animais em que a *Leptospira* spp. não causa a doença, ou ela é subclínica, com sinais relativamente leves da doença, a produção de imunoglobulinas é baixo e há uma colonização renal por tempo prolongado promovendo uma contaminação ambiental por um longo período (ROJAS et al., 2010; LUCHEIS & FERREIRA JUNIOR, 2011). Já os hospedeiros acidentais, por sua vez, a doença pode ser mais grave, há uma produção elevada de anticorpos e a

colonização renal é curta ou inexistente (ROJAS et al., 2010; LUCHEIS & FERREIRA JUNIOR, 2011). Essa associação com os hospedeiros de manutenção propicia condições benéficas de sobrevivência no hospedeiro e contaminação do ambiente ao induzir menor imunogenicidade.

A fonte de infecção na epidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. é um animal infectado, e pelo exposto acima os hospedeiros de manutenção são os principais responsáveis pela contaminação ambiental. Portanto, os esforços de prevenção em saúde pública e saúde animal devem se concentrar em medidas de controle nas espécies preferenciais, e em compreender os padrões de associação sorovar-hospedeiro para que o controle seja mais efetivo e focado (WONG et al., 2012). A via de eliminação principal de *Leptospira* spp. é a urina, no entanto o contato direto com vísceras, sangue, e o contato indireto com o solo e água contaminada também pode levar à infecção (LANGONI ET AL., 2008; WYNWOOD et al., 2014).

As portas de entrada são a pele intacta (via cutânea) quando em período prolongado sob a água e principalmente a pele com ferimentos, bem como via mucosa oral, mucosas da garganta ou esôfago, e mucosas conjuntival e nasal, sendo que *Leptospira* spp. não resiste ao pH estomacal (LEVETT, 2001; LINGAPAA et al., 2004; ADLER & MOCTEZUMA, 2010; EVANGELISTA & COBURN, 2010; ASOH et al., 2014; POLACHINI & FUJIMORI, 2015).

A imunidade para *Leptospira* spp. é específica para o sorogrupo, por isso não há reações cruzadas entre sorogrupos diferentes e a bactéria pode persistir nas células epiteliais dos túbulos renais, causando eliminação urinária por meses e anos, mesmo após a recuperação clínica (HARTMANN et al., 2013).

#### **Aspectos específicos da epidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em felinos**

Particularmente a transmissão nos felinos domésticos se dá principalmente pela via oral, pois estes podem se infectar ao se alimentarem de animais, especialmente roedores, que abrigam *Leptospira* spp. (SHOPHET & MARSHALL, 1980; HARTMANN et al., 2013). O comportamento normal dos felinos de ter aversão a água reduz a possibilidade de exposição a *Leptospira* spp. pelo contato água-tecido cutâneo, que é a forma mais comum de infecção em outras espécies (SHOPHET & MARSHALL, 1980; HARTMANN et al., 2013). Os felinos ainda podem ser expostos a urina de cachorros contactantes (HARTMANN et al., 2013).

A transmissão via caça e presa já foi comprovada experimentalmente com camundongos (Shophet & Marshall, 1980) e estudos epidemiológicos sugerem maior prevalência em felinos com hábitos de caça especializados para roedores que potencialmente podem abrigar *Leptospira* spp. promovendo sua exposição a esta bactéria (JAMSHIDI et al., 2009; AZÓCAR-AEDO et al., 2014a). Felinos podem ter leptospiúria de

duas a oito semanas, fato este que comprova que esta espécie pode promover contaminação ambiental (Larsson et al., 1985).

Outras espécies predadas por gatos como e morcegos podem carrear leptospiros. Morcegos também podem ser portadores de *Leptospira* spp., são considerados reservatórios dos sorovares Cynopteri e Wolffii, podem excretar pela urina por até cinco meses e já foram associados a casos humanos de leptospirose, e os agrupamentos de quirópteros em colônias favorece a transmissão via urina (FENNESTAD & BORG-PETERSEN, 1972; VASHI et al., 2010; DIETRICH et al., 2015a; DIETRICH et al., 2015b; MAYER et al., 2017).

Gatos também podem preda aves e estudos realizados na África detectaram DNA de *Leptospira* spp. em amostras de rins de diversas espécies de aves naquele continente, mas ainda faltam mais evidências de que sejam infectadas e que possam transmitir para outros animais (TORTEN et al., 1965; FAINE et al., 2000; JOBINS & ALEXANDER, 2015).

Estudos demonstraram que gatos saudáveis podem ser hospedeiros assintomáticos constatados pela positividade da urina na Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), o que sugere o gato como uma fonte de infecção para os seres humanos e outros animais (RODRIGUEZ et al., 2014). *Leptospira* spp. como etiologia de doença renal permanece pouco esclarecida, porém estudos mostraram diferença significativa entre gatos hígidos e com doença renal, especialmente se

os felinos possuem estilo de vida livre devido ao seu potencial de caça (LANGSTON et al., 2003; RODRIGUEZ et al., 2014).

Pelo exposto, o papel do gato na transmissão deve ser reavaliado, pois a literatura sugere que a doença clínica é rara e o felino seria refratário, contudo pode ocorrer de haver susceptibilidade maior para alguns sorovares e outros não (LILENBAUM et al., 2014; RODRIGUEZ et al., 2014; SCHULLER et al., 2015). Relatos na literatura apontaram baixa frequência de reações sorológicas contra os sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni, o que contrasta com a epidemiologia da infecção leptospírica em (Ullmann et al., 2012), *Herpailurus yagouaroundi* (Lilenbaum et al., 2004), *Puma concolor* (Lilenbaum et al., 2004), *Leopardus tigrinus* (Guerra-neto et al., 2004) e *Leopardus geoffroyi* (Uhart et al., 2012). Também já houve o isolamento de *Leptospira* spp. a partir da cultura da urina de *Leopardus tigrinus* (SILVA et al., 2015).

Relatos de leptospirúria em felinos domésticos estão presentes em várias partes do mundo. No estado do Colorado foi detectado o DNA de *Leptospira* spp. por PCR quantitativo em amostras de urina de gatos (FENIMORE et al., 2012). Outros estudos também demonstraram a leptospirúria em felinos mesmo sem nível detectável de aglutininas e com ou sem sinais clínicos (WEIS et al., 2017).

Os gatos podem ter excreção urinária de *Leptospira* spp., podendo participar da cadeia epidemiológica como reservatórios,

outras espécies em que os mesmos sorovares tem predominância de sororreatividade, o que sugere plausibilidade biológica, haja vista que os felinos são exímios caçadores de roedores sinantrópicos que são os reservatórios do sorogrupo Icterohaemorrhagiae, e com o contato contínuo poderia ser desenvolvido a resistência e tal característica ser transmitida aos descendentes (LILENBAUM et al., 2014).

Felinos silvestres da fauna brasileira também podem ser infectados por *Leptospira* spp. entre eles as espécies *Panthera onça* (Furtado et al., 2015), *Leopardus pardalis* (Ullmann et al., 2012), *Leopardus wiedii*

logo, o papel dos felinos domésticos saudáveis como reservatórios e a relevância da leptospirose como doença clínica em felinos foram subestimados no passado e faz-se necessário maior diversidade e qualidade de estudos na área (SCHULLER et al., 2015).

Além de o felino possuir o hábito natural de caçar roedores, *Toxoplasma gondii* possibilita o aumento da predação por roedores, pois *T.gondii* induz a uma perda do medo inato em relação aos gatos, o que favorece a transmissão de *Leptospira* spp. (PRANDOVSKY et al., 2011; INGRAM et al., 2013).

A frequência de positividade por métodos sorológicos, moleculares e por isolamento em cultura para infecção por *Leptospira* spp. em felinos está entre 0 - 67,8 % dependendo da região geográfica e sorovares (Figura 1).

Já a frequência de positividade por métodos sorológicos para infecção por *Leptospira* spp. em felinos no Brasil está entre 0 - 22,6 % (Figura 2).

Cada região, município, estado ou país possui a sua particularidade epidemiológica em relação à infecção por *Leptospira* spp. em felinos, que estará relacionada aos sorovares presentes no ambiente, aos hospedeiros de manutenção e

reservatórios, as características geográficas, climáticas e ações antrópicas. Baseado nisto, verifica-se que para o controle da infecção por *Leptospira* spp. e consequentemente da leptospirose em felinos é necessário verificar inicialmente quais são os sorovares circulantes, para daí então definir as ações voltadas aos hospedeiros preferenciais de cada sorovar, sendo estes detectados pela soroaglutinação microscópica - MAT.

Figura 1 - Frequência da Infecção por *Leptospira* spp. em gatos de 2005-2017. MAT: Soroaglutinação Microscópica. IC: Isolamento em cultura. CP: Coloração pela Prata. ID: Imunofluorescência Direta. PCRc – Reação em Cadeia de Polimerase – Convencional. qPCR – Reação em Cadeia de Polimerase - *Real Time*.

| Continentes /País | Nº  | Frequência | Técnica de Diagnóstico / Ponto de Corte ou Amostra | Sorovares predominantes                   | Referência                   |
|-------------------|-----|------------|--|---|------------------------------|
| <i>América</i>    |     |            |  |   |                              |
| Canadá            | 114 | 14,90%     | MAT - 1:100  | Pomona, Bratislava, Grippotyphosa         | Rodriguez et al. (2014)      |
| Canadá            | 125 | 7,20%      | MAT - 1:100  | Pomona, Bratislava, Grippotyphosa         | Rodrigues et al. (2014)      |
| USA               | 66  | 6,06%      | MAT- 1:100   | Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bratislava | Shropshire et al. (2016)     |
| USA               | 75  | 10,66%     | MAT- 1:100   | Icterohaemorrhagiae , Bratislava          | Shropshire et al. (2016)     |
| USA               | 85  | 11,76%     | qPCR- Urina  |   | Fenimore et al. (2012)       |
| México            | 13  | 23,2%      | MAT- 1:100   | Canicola e Australis                      | Ortega-Pacheco et al. (2017) |
| Argentina         | 5   | 0%         | MAT- 1:100   |   | Uhart et al. (2012)          |
| Chile             | 124 | 8,10%      | MAT- 1:100   | Autumnalis, Canicola, Bataviae            | Azócar-Aedo et al. (2014a)   |
| USA               | 63  | 4,80%      | MAT- 1:100   | Autumnalis, Pomona, Bratislava            | Markovich et al. (2014)      |
| Canadá            | 40  | 25,00%     | MAT- 1:100   | Autumnalis, Bratislava                    | Lapointe et al. (2013)       |
| Ilha de St. Kitts | 103 | 6,90 %     | MAT- 1:100   | Pomona, Bataviae, Ballum                  | Betance et al. (2017)        |

|                        |     |        |               |   |                            |
|------------------------|-----|--------|---------------|---|----------------------------|
| Ilha de St. Kitts      | 103 | 0,97%  | PCRe- Urina   |   | Betance et al. (2017)      |
| <i>Europa</i>          |     |        |               |   |                            |
| Alemanha               | 195 | 17,90% | MAT- 1:100    | Australis, Bratislava, Grippotyphosa              | Weis et al. (2017)         |
| Alemanha               | 215 | 3,30%  | qPCR -Urina   |   | Weis et al. (2017)         |
| Sérvia                 | 161 | 26,70% | MAT- 1:100    | Australis, Pomona, Canicola, Pyrogenes            | Sonja et al. (2014)        |
| Espanha                | 44  | 13,60% | MAT - 1:100   | Icterohaemorrhagiae , Ballum                      | Millán et al. (2009)       |
| Espanha                | 25  | 20,00% | IC, CP e ID   | Icterohemorrhagiae, Canicola, Ballum, Sejroë      | Millán et al. (2009)       |
| Grécia                 | 99  | 33,30% | MAT- 1:50     | Autumnalis-Rachmati, Bratislava, Ballum, Bataviae | Mylonakis et al. (2005)    |
| <i>Asia</i>            |     |        |               |   |                            |
| Taiwan                 | 233 | 9,30%  | MAT           |   | Chan et al. (2014)         |
| Taiwan                 | 233 | 67,80% | PCRe - Urina  |   | Chan et al. (2014)         |
| Irã                    | 102 | 4,90%  | MAT - 1:100   | Ballum e Australis                                | Mosallanejad et al. (2011) |
| Irã                    | 132 | 21,20% | PCRe - Sangue |   | Azizi et al. (2013)        |
| Irã                    | 111 | 27,03% | MAT - 1:100   | Canicola, Hardjo, Icterohaemorrhagiae             | Jamshidi et al. (2009)     |
| Irã                    | 147 | 12,92% | MAT- 1:100    | Hardjo, Pomona , Icterohaemorrhagiae              | Talebkhani et al. (2015)   |
| Coréia do Sul          | 24  | 62,50% | PCRe - Rins   |   | Truong et al. (2013)       |
| Malásia                | 50  | 0%     | PCRe - Rins   | /   | Benacer et al. (2017)      |
| <i>Ocenia</i>          |     |        |               |   |                            |
| Austrália              | 59  | 42,40% | PCRe – Rins   |   | Dybing et al. (2017)       |
| Austrália              | 23  | 0%     | PCRe – Rins   |   | Dybing et al. (2017)       |
| Austrália              | 59  | 0%     | PCRe – Rins   |   | Dybing et al. (2017)       |
| <i>África</i>          |     |        |               |   |                            |
| Ilhas Reunião – França | 30  | 26,60% | MAT - 1:100   |   | Desvars et al. (2013)      |
| Ilhas Reunião – França | 30  | 28,60% | qPCR - Rins   |   | Desvars et al. (2013)      |

Figura 2 - Frequência da Infecção por *Leptospira* spp. em gatos na literatura nacional por estado da federação no período 2003-2015. MAT: Soroaglutinação Microscópica.

| <b>Região<br/>Município /estado</b> | <b>Nº</b> | <b>Frequência<br/>(%)</b> | <b>Técnica de<br/>Diagnóstico /<br/>Ponto de Corte</b> | <b>Sorovares<br/>predominantes</b>                            | <b>Referência</b>             |
|-------------------------------------|-----------|---------------------------|--|---|-------------------------------|
| <i>Região Centro-Oeste</i>          |           |                           |  |   |                               |
| Goiania/GO                          | 330       | 6,96%                     | MAT / 1:100  | Cynopteri,<br>Djasiman, Buembo,<br>Castellonis                | Parreita et al. (2010)        |
| Parque Nacional<br>das Emas/GO, MS  | 9         | 0%                        | MAT / 1:100  |   | Furtado et al. (2015)         |
| Pantanal/MS                         | 10        | 10,00%                    | MAT / 1:100  | Hardjo  | Furtado et al. (2015)         |
| <i>Região Sudeste</i>               |           |                           |  |   |                               |
| Araçatuba/SP                        | 55        | 0%                        | MAT / 1:100  |   | Mittestainer et al.<br>(2015) |
| Botucatu/SP                         | 100       | 0%                        | MAT / 1:100  |   | Mittestainer et al.<br>(2015) |
| São Paulo/SP                        | 28        | 0%                        | MAT / 1:100  |   | Sarmiento et al. (2007)       |
| Uberaba/MG                          | 8         | 0%                        | MAT / 1:100  |   | Esteves et al. (2005)         |
| Uberlândia/MG                       | 31        | 22,6%                     | MAT / 1:100  | Pyrogenes,<br>Autumnalis,<br>Icterohaemorrhagiae,<br>Bataviae | Santos et al. (2006)          |
| <i>Região Nordeste</i>              |           |                           |  |   |                               |
| Patos/PB                            | 129       | 5,43%                     | MAT / 1:100  | Pomona  | Brasil et al. (2014)          |
| Patos/PB                            | 100       | 11,00%                    | MAT / 1:100  | Autumnalis, Pomona  | Alves et al. (2003)           |
| <i>Região Norte</i>                 |           |                           |  |   |                               |
| Parque Estadual do<br>Cantão/TO     | 10        | 0%                        | MAT / 1:100  |   | Furtado et al. (2015)         |

Os fatores de risco que propiciam a infecção por *Leptospira* spp. podem ser diversos e estudos já apontaram que gatos com idade maior que quatro anos, presença de grama no ambiente onde o animal permanece e presença de ratos são indicativos de maior possibilidade de infecção leptospírica (BRASIL et al., 2014). Gatos com hábitos ferais, ou de estilo de vida livre, podem logicamente aumentar o contato com fontes de infecção para *Leptospira* spp., cujos reservatórios principais são os pequenos roedores caçados por felinos domésticos (ARBOUR et al., 2012). Animais mais velhos têm maior tempo de exposição ao ambiente e maior habilidade de caça (MYLONAKIS et al., 2005; MOSALLANEJAD et al., 2011).

Em pesquisa realizada no Canadá também foram demonstrados como fatores de risco significativamente associados gatos com estilo de vida livre e de caça e presença de outro gato na casa (RODRIGUEZ et al., 2014). Características mais favoráveis como a cobertura vegetal propicia um maior tempo de sobrevivência de *Leptospira* spp. no ambiente, o que pode corroborar com o indicado no estudo, que apontou ainda como fator de risco a presença de grama no local em que o felino permanece (BRASIL et al., 2014).

Em estudo no Chile foram associados como fator de risco para infecção leptospírica à origem rural do gato em detrimento dos felinos no espaço urbano e também o fato de felinos viverem em locais próximos a áreas alagadas (AZÓCAR-AEDO et al., 2014b).

Há escassez de informação sobre a leptospirose em felinos em comparação com outras espécies, particularmente sobre as características específicas da doença, o uso de testes diagnósticos e as opções de tratamento (AZÓCAR-AEDO et al., 2014b; RODRIGUEZ et al., 2014; SCHULLER et al., 2015). No entanto, esta doença deve ser considerada na prática clínica, pois existem dados comprovando sintomas clínicos importantes em felinos acometidos pela leptospirose (AZÓCAR-AEDO et al., 2014b; RODRIGUEZ et al., 2014; SCHULLER et al., 2015). Para avaliar a hipótese de os gatos não serem refratários seria ideal um estudo clínico prospectivo avaliando a soroprevalência e o estado de felinos como diagnóstico positivo de leptospirose e que apresentem clinicamente distúrbios renais e hepáticos, e, para maior consistência, o estudo deveria ser realizado em gatos com insuficiência (ARBOUR et al., 2012).

Vacinas contra *Leptospira* spp. não estão disponíveis comercialmente para felinos domésticos, logo a prevenção da leptospirose em gatos estaria embasada em fatores como evitar que eles se alimentem de roedores com potencial de infecção e o contato com água estagnada (Shropshire et al., 2016). Os gatos que vivem em ambientes internos, tais como apartamentos, tem um risco baixo de se infectar, no entanto, a prevenção deve existir, especialmente no controle de roedores (SHROPSHIRE et al., 2016).

O diagnóstico de infecção pela detecção de anticorpos em felinos domésticos

é facilitado pela inexistência de vacina comercial disponível para leptospirose em gatos (HARTMANN et al., 2013). Experimento publicado no ano de 2016 utilizando a aplicação em dois gatos livres de patógenos específicos (SPF) de vacinas comerciais para leptospirose em cães comprovaram que gatos podem produzir anticorpos aglutinantes para sorovares de *Leptospira* spp. (SHROPSHIRE et al., 2016). Apesar disso, os próprios autores ressaltaram que esta informação não deve ser usada para recomendar a administração da vacina canina em gatos, pois estudos adicionais são necessários como, por exemplo, a titulação de anticorpos, adjuvantes, duração das características de imunidade e o grau de resposta imune celular e humoral (SHROPSHIRE et al., 2016).

Os únicos meios de prevenção da infecção por *Leptospira* spp. em felinos domésticos seriam evitando o contato de gatos com roedores que podem estar infectados e em menor ênfase evitar o contato de felinos com água estagnada, pois ainda não foi desenvolvida uma vacina comercial para gatos (HARTMANN et al., 2013). Gatos possuem o hábito natural de caçar, portanto é necessário que o dono possa fazer o enriquecimento ambiental de modo que ele possa expressar seu comportamento natural, com o uso de presas artificiais que podem substituir a caça real.

### Sinais Clínicos

Estudos mais recentes vêm contradizendo pesquisas anteriores, ao

comprovarem que gatos não são resistentes ou refratários e podem desenvolver sinais clínicos de leptospirose clínica (ARBOUR et al., 2012; LILENBAUM et al., 2014). Destaca-se o período de incubação mais longo e que a refratariedade pode ocorrer para alguns sorovares e outros não (ARBOUR et al., 2012; LILENBAUM et al., 2014). Estudos ainda recentes até consideravam não inserir os gatos em estudos de frequência sorológica e consequentemente não testavam amostras de felinos por considerá-los refratários para leptospirose (CALDART et al., 2015).

Os padrões globais de prevalência em carnívoros são mais bem associados a fatores de risco ambientais do que variáveis climáticas, diferentemente da epidemiologia humana, por isso o hábito de caça dos carnívoros, entre estes se destacam os felinos por serem predadores de topo de cadeia, se torna o maior fator de exposição a infecção leptospírica (ANDERSEN-RANBERG et al., 2016).

As principais consequências da leptospirose em felinos domésticos são inflamações hepáticas e doenças renais (BRYSON & ELLIS, 1976; BEAUDU-LANGE & LANGE, 2014). A apresentação clínica de felinos domésticos com leptospirose clínica mais frequente é a nefrite intersticial diretamente acarretada pela colonização renal por *Leptospira* spp. (HARTMANN et al., 2013). O período de incubação pode se dar alguns meses após o último contato com possíveis reservatórios, portanto existe a possibilidade dos felinos desenvolverem sinais clínicos após um período mais longo do



que aquele documentado experimentalmente (ARBOUR et al., 2012).

Em relação a doenças renais a leptospirose pode estar relacionada em casos clínicos de síndrome de poliúria/polidipsia e insuficiência renal. Em estudo realizado por Arbour et al. (2012) houve a descrição de um caso clínico de felino com histórico de ter vida livre e ter sido adotado de abrigo superlotado e com alta infestação de ratos. O animal apresentava poliúria e polidipsia, e os resultados dos exames complementares realizados após ser levado a centro de referência evidenciaram densidade da urina alterada (1.005), febre, rins pequenos na palpação abdominal, neutrofilia ( $34,9 \times 10^9 / L$ ), ureia levemente elevada (13,5 mmol / L), redução acentuada da junção corticomedular ao ultrassom abdominal, teste negativo para os vírus da imunodeficiência felina (FIV) e leucemia felina (FELV). Já a sorologia para *Leptospira* spp. revelou titulação de anticorpos detectáveis para os sorovares Pomona (1:12.800), Grippotyphosa (1:200), Icterohaemorrhagiae (1:200), Hardjo (1:200), Canicola (1:100) e Bratislava (1:100) (ARBOUR et al., 2012). Os mesmos autores relataram outro caso clínico de felino doméstico fêmea, com histórico de visita ao ar livre, histórico de caça e ingestão de suas presas, apresentando letargia e anorexia, poliúria, polidipsia, desidratação severa, neutrofilia ( $13,8 \times 10^9 / L$ ), linfopenia, trombocitopenia moderada ( $723 \times 10^9 / L$ ), elevação na taxa sérica de ureia (94 mmol /

L), elevação da taxa sérica de creatinina ( $2,093 \mu\text{mol/L}$ ), rins aumentados e irregulares ao exame ultrassonográfico, e testes com resultado negativo para FIV e FELV (ARBOUR et al., 2012).

Em outro estudo constatou-se o isolamento de *Leptospira* spp. dos rins, humor aquoso, fluido torácico, e apresentaram hemorragias e alteração de cor nas cavidades peritoneais e torácica (BRYSON & ELLIS, 1976). Em um relato de caso de leptospirose clínica em felino de quatro anos na França, uma gata com histórico de contato com cães caçadores, apresentou vômito e diarreia, proteinúria, azotemia, hiperglobulinemia, aumento da taxa sérica de creatinina e ureia, neutrofilia, nefromegalia ao exame ultrassonográfico, teste PCR positivo para *Leptospira* spp., e o teste pareado de MAT mostrou soroconversão para Sorovar Saxkoebing (BEAUDU-LANGE & LANGE, 2014).

Lilenbaum et al. (2014) sugeriram que o sorovar Icterohaemorrhagiae pode ser menos patogênico para felinos do que o sorovar Pomona. Esta informação deve ser corroborada por estudos mais aprofundados, pois relatos clínicos descritos na literatura apontaram o envolvimento da detecção do sorovar Pomona em animais clinicamente acometidos pela leptospirose (Arbour et al., 2012). Ressalta-se ainda que apenas a sorologia e o PCR podem não demonstrar o sorovar que realmente está infectando os

Ribeiro et al., Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal (v.12, n.1) p. 101 – 119 jan – mar (2018)

felinos, sendo necessário o isolamento bacteriano do agente (LILENBAUM et al., 2014).

### Diagnóstico

O diagnóstico da leptospirose clínica em felinos é baseado em aspectos epidemiológicos como histórico de vida ao ar livre, semi-livre, gatos ferais, hábito de caça, em especial, aos roedores, nos sinais clínicos apresentados, e é embasado por exames complementares, tais como exames bioquímicos da função renal e hepática, técnicas sorológicas, moleculares e microbiológicas de detecção de *Leptospira* spp. (ARBOUR et al., 2012; BEAUDU-LANGE & LANGE, 2014).

A principal técnica sorológica utilizada é a soromicroaglutinação (MAT), sendo a mais empregada em estudos epidemiológicos, embora a positividade neste teste não implique necessariamente que o animal esteja doente, mas tão apenas infectado (HARTMANN et al., 2013). Nas técnicas de soroaglutinação microscópica e o Ensaio de adsorção imunoenzimática (ELISA), podem ocorrer resultados falsos negativos pelo fato de alguns sorogrupos não serem avaliados (HARTMANN et al., 2013). Um aumento de quatro vezes na titulação realizada entre dois testes pareados com um intervalo mínimo de sete-14 dias pode indicar consistentemente uma infecção ativa (SYKES et al., 2011). As dosagens séricas de ureia e creatinina podem auxiliar na avaliação da função renal, sendo recomendada para análise da função renal a aferição dos dois compostos

especialmente nos quadros de leptospirose clínica para constatação de azotemia (ARBOUR et al., 2012; GREENE, 2012).

Os métodos diretos de identificação de *Leptospira* spp. incluem a visualização na urina fresca em campo escuro, em histopatologia de tecidos acometidos e visualizados em microscopia de luz, detecção do DNA pelo método de PCR ou a cultura e isolamento de *Leptospira* spp., podendo ser utilizado a urina em fases agudas da doença (HARTMANN et al., 2013). Já pode ser realizada a PCR de genes (ligA, ligB2, lipL32, lfb1) restritos a espécies patogênicas de *Leptospira* spp., e já existem PCR-*real time* que em ensaios multiplex conseguem diferenciar leptospirosas patogênicas das não patogênicas (MERIEN et al., 2005; PALANIAPPAN et al., 2005; BEDIR et al., 2010).

A mensuração de compostos relacionados à função hepática e renal também são de grande valia no diagnóstico, devido aos sinais clínicos apresentados e para avaliação de prognóstico (TUZIO et al., 2005).

Amostras para cultura de *Leptospira* spp. podem ser realizadas, especialmente da urina (Millán et al., 2009), sendo o meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) mais utilizado (MUSSO et al., 2013). As amostras para isolamento em cultura devem ser processadas rapidamente devido a acidez da urina do homem e carnívoros, e incubadas em temperatura entre 28-30°C e examinada por microscopia de campo escuro

por até 13 semanas (MUSSO et al., 2013). As amostras utilizadas para isolamento podem ser urina, sangue, fluido cerebrospinal e outros tecidos obtidos *post mortem* (Loureiro et al., 2013), e os rins poderiam ser indicados como tecidos para cultura.

### **Tratamento**

O tratamento da leptospirose tem como base o suporte básico do paciente, de acordo com suas apresentações clínicas que irão depender do estado e severidade de disfunção renal e hepática e outros fatores, podendo haver intervenção com hemodiálise, pois os danos renais determinam fortemente o prognóstico (HARTMANN et al., 2013).

A antibioticoterapia em leptospirose clínica em felinos consiste num primeiro estágio em reduzir a replicação e complicações da falência renal e hepática, sendo a penicilina e seus derivados alternativas para a redução da sua replicação na dose de 20 mg/Kg de oito em oito horas, pela via intravenosa (IV) (HARTMANN et al., 2013) . No entanto, outros autores sugerem a ampicilina na dose 22 mg/Kg, IV, de oito em oito horas para tratamento da leptospirose em felinos (Tuzio et al., 2005). Tanto ampicilina quanto a amoxicilina (20 mg/kg , de 12-12 h, IV), podem ser usadas em felinos inicialmente (HARTMANN et al., 2013; BEAUDU-LANGE & LANGE, 2014).

Após esse período é necessário o uso da doxiciclina na dosagem de 5 mg/Kg, por duas vezes ao dia, pela via oral por três semanas ou como outros autores sugerem na dose de 16 mg/kg apenas uma vez ao dia via

oral, por quatro semanas é recomendado (HARTMANN et al., 2013; BEAUDU-LANGE & LANGE, 2014). A doxiciclina é mais comumente usada via oral, de preferência em suspensão (comprimidos ou cápsulas possuem o risco de causar estenose esofágica), pois a aplicação intravenosa pode causar vômito e as injeções subcutâneas podem desenvolver abscessos em felinos, além disso, é necessário monitorar a função hepática e renal para verificar o prognóstico e monitorar se o tratamento está sendo eficiente, pois a doxiciclina pode causar toxicidade hepática (HARTMANN et al., 2013; BEAUDU-LANGE & LANGE, 2014).

Arbour et al. (2012), ao atenderem caso clínico de leptospirose em um gato, iniciaram o tratamento com ampicilina na dosagem de 22 mg/Kg, IV, de oito em oito horas, enrofloxacin na dosagem de 2, 5 mg/Kg IV de 12 em 12 horas e ciproheptadina na dose de 2 mg, via oral de oito em oito horas por dois dias, e em seguida iniciou-se o tratamento com doxiciclina na dose de 7 mg/kg, via oral, uma única vez ao dia por quatro semanas.

### **Considerações Finais**

A leptospirose possui uma elevada importância em saúde pública especialmente em locais onde há infraestrutura deficiente e zonas rurais, e embora não haja até o momento relato da transmissão de leptospirose de gatos para seres humanos, esta possibilidade não pode ser descartada, pois o gato pode ter leptospirose e tendo em vista que já houve casos clínicos de transmissão

pela urina de outras espécies animais para seres humanos.

A realização de estudos mais aprofundados em felinos, principalmente em relação a soroprevalência para identificação de sorovares, e a condução de técnicas como o PCR de urina e isolamento de culturas de urina, são necessários de modo que possam ser verificados quais os sorovares mais prevalentes e suas potenciais fonte de infecção, e quais espécies patogênicas de *Leptospira* spp. estão envolvidas na eliminação urinária.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o gato não é mais um animal tido como refratário, pois a sua susceptibilidade tem sido evidenciada em relatos de casos clínicos recentemente publicados. Logo, se faz necessário que os Médicos Veterinários atuantes na clínica médica de felinos possam considerar a leptospirose no diagnóstico de distúrbios renais e hepáticos, haja vista que de acordo com a literatura são os sinais mais comumente apresentados quando ao surgimento da enfermidade clínica.

#### Referencias Bibliográficas

- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A.P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v.140, n.3-4, p.287-296, 2010.
- ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; ANDRADE, J.S.L.; CLEMENTINO, I.J.; AZEVEDO, S.S.; SANTOS, F.A. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospiras em gatos no município de Patos - PB. **Clínica Veterinária**, Ano VIII, Edição 46, p.52-54, 2003.
- ANDERSEN-RANBERG, E.U.; JENSEN, P.M.; PIPPER, C. Global patterns of leptospira prevalence in vertebrate reservoir hosts. **Journal of Wildlife Diseases**, v.52, p.3, p.1-10, 2016.
- ASOH, T.; SAITO, M.; VILLANUEVA, S.Y.A.M.; KANEMARU, T.; GLORIANI, N.; YOSHIDA, S-I. Natural defense by saliva and mucosa against oral infection by *Leptospira*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.60, n.6, p.383-389, 2014.
- ARBOUR, J.; BLAIS, M.C.; CARIOTO, L.; SYLVESTRE, D. Clinical leptospirosis in three cats (2001-2009). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.48, n.4, p.256-260, 2012.
- AZIZI, P.S.; MOMTAZ, H.; GOODARZI, A.M.; TAJBAKHS, E. Per detection of leptospira in stray cats, probable reservoir. **Bulletin de l'Académie vétérinaire de France**, v.166, n.1, p.67-70, 2013.
- AZÓCAR-AEDO, L.; MONTI, G.; JARA, R. *Leptospira* spp. in domestic cats from different environments: prevalence of antibodies and risk factors associated with the seropositivity. **Animals**, v.4, n.4, p.612-626, 2014a.
- AZÓCAR-AEDO, L.; SMITS, H.L.; MONTI, G. Leptospirosis in dogs and cats: epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention. **Archivos de medicina veterinária**, v.46, n.3, p.337-348, 2014b.
- BEAUDU-LANGE, C.; LANGE, E. Unusual clinical presentation of leptospirosis in a cat. **Revue Vétérinaire Clinique**, v.49, n.3, p.115-122, 2014.
- BEDIR, O.; KILIC, A.; ATABEK, E.; KUSKUCU, A.M.; TURHAN, V.; BASUSTAUGLU, A.C. Simultaneous detection and differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Leptospira* spp. by multiplex real-time PCR (TaqMan) assay. **Polish Journal of Microbiology**, v.59, p.167-173, 2010.
- BENACER, D.; THONG, K.L.; OOI, P.T.; SOURIS, M.; LEWIS, J.W.; AHMED, A.A.; MOHD ZAIN, S.N.

Serological and molecular identification of *Leptospira* spp. in swine and stray dogs from Malaysia. **Tropical Biomedicine**, v.34, n.1, p.89-97, 2017.

12. BETANCE, L.; PEDA, A.; CONAN, A.; RIBEIRO, J. Seroprevalence of leptospirosis in the feral cat population of St. Kitts. **Journal of Animal Research and Technology**, p.38-42, 2017. Disponível em: <http://journals.atlas-publishing.org/index.php/JART/article/view/108>.

13. BRASIL, A.W.L.; PARANTONI, R.N.; FEITOSA, T.F.; VILELA, V.L.R.; ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; DE AZEVEDO, S.S. Anti-*Leptospira* spp. antibodies in cats from the semiarid of the Paraíba State. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.6, p.3215-3220, 2014.

14. BRYSON, D.G.; ELLIS, W.A. Leptospirosis in a British domestic cat. **Journal of Small Animal Practice**, v.17, n.7, p.459-465, 1976.

15. CALDART, E.T.; CONSTANTINO, C.; PASQUALI, A.K.S.; BENITEZ, A.N.; HAMADA, F.N.; DIAS, R.C.F.; RORATO-NASCIMENTO, A.M.; MARANA, E.R.M.; NAVARRO, I.T.; MASCARENHAS, N.M.F.; FREITAS, J.C.; FREIRE, R.L. Zoonosis in dogs and cats attended by the birth control project: *Toxoplasma gondii*, *Leishmania* spp. and *Leptospira* spp., serodiagnosis and epidemiology. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.1, p.253-266, 2015.

16. CHAN, K.W.; HSU, Y.H.; HU, W.L.; PAN, M.J.; LAI, J.M.; HUANG, K.C.; CHOU, S.J. Serological and PCR detection of feline leptospira in southern Taiwan. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.14, n.2, p. 118-123, 2014.

17. DESVARS, A.; NAZE, F.; BENNEVEAU, A.; CARDINALE, E.; MICHAULT, A. Endemicity of leptospirosis in domestic and wild animal species from Reunion Island (Indian Ocean). **Epidemiology & Infection**, v.141, n.6, p.1154-1165, 2013.

18. DIETRICH, M.; MÜHLDFORFER, K.; TORTOSA, P.; MARKOTTER, W.

*Leptospira* and Bats: Story of an Emerging Friendship. **PLoS Pathogens**, v.11, n.11, p.1-6, 2015a.

19. DIETRICH, M.; WILKINSON, D.A.; BENLALI, A.; LAGADEC, E.; RAMASINDRAZANA, B.; DELLAGI, K.; TORTOSA, P. *Leptospira* and paramyxovirus infection dynamics in a bat maternity enlightens pathogen maintenance in wildlife. **Environmental Microbiology**, v.17, n.11, p.4280-4289, 2015b.

20. DUPOUEY, J.; FAUCHER, B.; EDOUARD, S.; RICHET, H.; KODJO, A.; DRANCOURT, M.; DAVOUST, B. Human leptospirosis: an emerging risk in Europe? **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.37, n.1, p. 77- 83, 2014.

21. DYBING, N.A.; JACOBSON, C.; IRWIN, P.; ALGAR, D.; ADAMS, P.J. *Leptospira* species in feral cats and black rats from Western Australia and Christmas Island. **Vector-Borne And Zoonotic Diseases**, v.17, n.5, p. 319-324, 2017.

22. ESTEVES, F.M.; GUERRA-NETO, G.; GIRIO, R.J.S.; SILVA-VERGARA, M.L.; CARVALHO, A.C.F.B. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do zoológico municipal de Uberaba, MG. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.283-288, 2005.

23. EVANGELISTA, K.V.; COBURN, J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. **Future Microbiology**, v.5, n.9, p.1413-1425, 2010.

24. FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2nd Ed. Melbourne: MedSci, 2000. 272 p.

25. FENIMORE, A.; CARTER, K.; LUNN, K.F. Detection of leptospirosis in shelter cats in Colorado. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, p.783, 2012.

26. FENNESTAD, K.L.; BORG-PETERSEN, C. Leptospirosis in danish wild mammals. **Journal of Wildlife Diseases**, v.8, n.343-351, 1972.
27. FOUTS, D.E.; MATTHIAS, M.A.; ADHIKARLA, H.; ADLER, B.; AMORIM-SANTOS, L.; BERG, D.E.; BULACH, D.; BUSCHIAZZO, A.; CHANG, Y.F.; GALLOWAY, R.L.; HAAKE, D.A.; HAFT, D.H.; HARTSKEERL, R.; KO, A.I.; LEVETT, P.N.; MATSUNAGA, J.; MECHALY, A.E.; MONK, J.M.; NASCIMENTO, A.L.; NELSON, K.E.; PALSSON, B.; PEACOCK, S.J.; PICARDEAU, M.; RICARDI, J.N.; THAIPANDUNGPANIT, J.; WUNDER, E.A. JR.; YANG, X.F.; ZHANG, J.J.; VINETZ, J.M. What Makes a Bacterial Species Pathogenic?: Comparative Genomic Analysis of the Genus *Leptospira*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.10, n.2, p.1-57, 2016.
28. FURTADO, M.M.; GENNARI, S.M.; IKUTA, C.Y.; JÁCOMO, A.T.A.; DE MORAIS, Z.M.; PENA, H.F.J.; PORFÍRIO, G.E.O.; SILVEIRA, L.; SOLLMANN, R.; SOUZA, G.O.; TÔRRES, G.M.; FERREIRA NETO, J.S. Serosurvey of Smooth *Brucella*, *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* in Free-Ranging Jaguars (*Panthera onca*) and Domestic Animals from Brazil. **PLoS One**, v. 10, n.11, p. e0143816, 2015.
29. GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4th ed. St. Louis: Elsevier/Saunders, 2012. 1354 p.
30. GUERRA-NETO, G.; GIRIO, R.J.S.; ANDRADE, T.M.; KOPROSKI, L.P.; MORAES, W.; SANTOS, L.C. Ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais pertencentes ao Criadouro de Animais Silvestres a Itaipu Binacional e ao zoológico municipal Bosque Guarani, Foz do Iguaçu, Estado do Paraná. **ARS Veterinária**, v.20, n.1, p.75-80, 2004.
31. HARTMANN, K.; EGBERINK, H.; PENNISI, M.G.; LLORET, A.; ADDIE, A.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T.; HOSIE, M.J.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; MÖSTL, K.; RADFORD, A.D.; THIRY, E.; TRUYEN, E.U.; HORZINEK, M.C. *Leptospira* Species Infection In Cats Abcd guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.15, p.576-581, 2013.
32. INGRAM, W.M.; GOODRICH, L.M.; ROBEY, E.A.; EISEN, M.B. Mice infected with low-virulence strains of *toxoplasma gondii* lose their innate aversion to cat urine, even after extensive parasite clearance. **PLoS ONE**, v.8, n.9, p.1-6, 2013.
33. JAMSHIDI, S.; AKAHAVIZADEGAN, M.; BOKAIE, S.; MAAZI, N.; GHORBAN-ALI, A. Serologic study of feline leptospirosis in Theran, Iran. **Iran Journal of Microbiology**, v.1, n.2, p.32-36, 2009.
34. JOBBINS, S.E.; ALEXANDER, K.A. Evidence of *Leptospira* sp. infection among a diversity of African wildlife species: beyond the usual suspects. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.109, n.5, p. 349-351, 2015.
35. LANGSTON, C.E.; HEUTER, K.J. Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.33, n.4, p. 791-807, 2003.
36. LAPOINTE, C.; PLAMONDON, I.; DUNN, M. Feline leptospirosis serosurvey from a Quebec referral hospital. **The Canadian Veterinary Journal**, v.54, n.5, p.497-499, 2013.
37. LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n. 2, p.296-326, 2001.
38. LILENBAUM, W.; MONTEIRO, R.V.; ALBUQUERQUE, C.E.; RISTOW, P.; FRAGUAS, S.; CARDOSO, V.S.; FEDULLO, L.P.L. Leptospiral antibodies in wild felines from Rio de Janeiro Zoo, Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 168, n.2, p.191-193, 2004.
39. LILENBAUM, W.; NARDUCHE, L.; LOUREIRO, A.P.; PENNA, B.A. Letter to the Editor. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, n.6, p.1633, 2014.

40. LINGAPPA, J.; KUFFNER, T.; TAPPERO, J.; WHITWORTH, W.; MIZE, A.; KAISER, R.; MCNICHOLL, J. HLA-DQ6 and ingestion of contaminated water: possible gene-environment interaction in an outbreak of leptospirosis. **Genes and Immunity**, v.5, p.197-202, 2004.
41. LOUREIRO, A.P.; MARTINS, G.; THOMÉ, S.; LILENBAUM, W. Laboratorial Diagnosis of Animal Leptospirosis. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.20, n.3, p.119-126, 2013.
42. LUCHEIS, S.B.; FERREIRA JUNIOR, R.S. Ovine leptospirosis in Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.17, n.4, p.394-405, 2011.
43. MARKOVICH, J.E.; ROSS, L.; MCCOBB, E. The Prevalence of leptospiral antibodies in free roaming cats in Worcester County, Massachusetts. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, n.3, p.688-689, 2012.
44. MAYER, F.Q.; DOS REIS, E.M.; BEZERRA, A.V.A.; CERVA, C.; ROSA, J.; CIBULSKI, S.P.; LIMA, F.E.S.; PACHECO, S.M.; RODRIGUES, R.O. Pathogenic *Leptospira* spp. in bats: Molecular investigation in Southern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.52, p.14-18, 2017.
45. MERIEN, F.; PORTNOI, D.; BOURHY, P.; CHARAVAY, F.; BERLIOZ-ARTHAUD, A.; BARANTON, G. A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. **FEMS Microbiology Letters**, v.249, p.139-147, 2005.
46. MILLÁN, J.; CANDELA, M.G.; LÓPEZ-BAO, J.V.; PEREIRA, M.; JIMÉNEZ, M.A.; LEÓN-VIZCAÍNO, L. Leptospirosis in Wild and Domestic Carnivores in Natural Areas in Andalusia, Spain. **Vector-Borne And Zoonotic Diseases**, v.9, n.5, p.549-553, 2009.
47. MITTESTAINER, J.C.; MELCHERT, A.; RIBEIRO, J.F.A.; SARTORI, R.S.; JOAQUIM, S.F.; BRESCIANI, K.; LANGONI, H. Estudo soroepidemiológico da infecção por *Leptospira* spp. em gatos. **Veterinária e Zootecnia**, v.22, n.3, p.465-470, 2015.
48. MOREY, R.E.; GALLOWAY, R.L.; BRAGG, S.L.; STEIGERWALT, A.G.; MAYER, L.W.; LEVETT, P.N. Species-Specific Identification of Leptospiraceae by 16S rRNA Gene Sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, n.10, p.3510-3516, 2006.
49. MOSALLANEJAD, B.; GHORBANPOOR, NAJAFABADI, M.; AVIZEH, R.; ABDOLLAHPOUR, G.R.; ABADI, K. A serological survey of Leptospiral infection of cats in Ahvaz, southwestern of Iran. **International Journal of Veterinary Research**, v.5, p.49-52, 2011.
50. MUSSO, D.; LA SCOLA, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v.46, n.245-252, 2013.
51. MYLONAKIS, M.E.; BOURTZI-HATZOPOULOU, E.; KOUTINAS, A.F.; PETRIDOU, E.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; LEONTIDES, L.; SIOCHU, A. Leptospiral seroepidemiology in a feline hospital population in Greece. **Veterinary Record**, v.156, n.19, p.615-616, 2005.
52. ORTEGA-PACHECO, A.; GUZMAN-MARIN, E.; ACOSTA-VIANA, K.Y.; VADO-SOLIS, I.; JIMENEZ-DELGADILLO, B.; CARDENAS-MARRUFO, M.; PEREZ-OSORIO, C.; PUERTO-SOLIS, M.; JIMENEZ-COELLO, M. Serological survey of *Leptospira interrogans*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi* in free roaming domestic dogs and cats from a marginated rural area of Yucatan Mexico. **Veterinary Medicine and Science**, v.3, n.1, p.40-47, 2017.
53. PALANIAPPAN RU, CHANG YF, CHANG CF, PAN MJ, YANG CW, HARPENDING P, MCDONOUGH, S.P.; DUBOVI, E.; DIVERS, T.; QU, J.; ROE, B. Evaluation of lig-based conventional and real time PCR for the detection of pathogenic leptospires. **Molecular and Cells Probes**, v.19, p.111-117, 2005.

54. PARREIRA, I.M.; JAYME, V.S.; DE BUZIN, E.J.W.K.; TOMAZ, L.A.G.; DELFINO, D.A.A. Epidemiological features of infection through *Leptospira* spp. in domestic cats (*Felis Catus*) apparently healthy within the metropolitan area of Goiânia, Brazil. **Enciclopédia Biosfera**, v.6, n.9, p.1-5, 2010.
55. PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Médecine et maladies infectieuses**, v.43, n.1, p.1-9, 2013.
56. PICARDEAU, M. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita? **Nature Reviews Microbiology**, v.15, n.5, p. 297-307, 2017.
57. POLACHINI, C.O.; FUJIMORI, K. Canine and human leptospirosis, a possible conjunctival transmission in the Municipality of São Paulo, São Paulo State, Brazil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.6, n.3, p.59-65, 2015.
58. PRANDOVSKY, E.; GASKELL, E.; MARTIN, H.; DUBEY, J.P.; WEBSTER, J.P.; MCCONKEY, G.A. The Neurotropic Parasite *Toxoplasma Gondii* Increases Dopamine Metabolism. **PLoS ONE**, v.6, n.9, p.1-9, 2011.
59. RODRIGUEZ, J.; BLAIS, M-C.; LAPOINTE, C.; ARSENAULT, J.; CARIOTO, L.; HAREL, J. Serologic and Urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, n.2, p. 284–293, 2014.
60. ROJAS, P.; MONAHAN, A.M.; SCHULLER, S.; MILLER, I.S.; MARKEY, B.K.; NALLY, J.E. Detection and quantification of leptospires in urine of dogs: a maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.29, n.10, p.1305-1309, 2010.
61. SANTOS, J.P.; FERREIRA JÚNIOR, A.; MUNDIM, E.V.; SANTOS, M.P.; OLIVEIRA, P.R.; LIMA, A.M.C. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em gatos errantes da cidade de Uberlândia – MG. **Veterinária Notícias**, v.12, n.2, p.122, 2006.
62. SARMENTO, A.M.C.; GUAZELLI, A.; BARRETO, L.F.G.; DA COSTA, V.M.; HOFFMANN, J.L.; LUCHEIS, S.B.; LANGONI, H.; PINHEIRO, S.R. Estudo da leptospirose em cães e gatos, da leishmaniose e da doença de Chagas em cães de aldeias indígenas guaranis em Parelheiros, Município de São Paulo-SP. **Veterinária e Zootecnia**, v.14, n.2, p.193-203, 2007.
63. SCHULLER, S.; FRANCEY, T.; HARTMANN, K.; HUGONNARD, M.; KOHN, B.; NALLY, J.E.; SYKES, J. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, n.3, p.159-179, 2015.
64. SILVA, F.J.; MATHIAS, L.; LOFFER, S.; BRIHUEGA, B.; SAMARTINO, L.; SANTOS, C.; SILVA, G.; ALARCON, M. Isolation of *Leptospira* spp. in Small Farm Populations in Nine States of Brazil. **International Journal of Epidemiology**, v.44, suppl.1, p.i204, 2015.
65. SHOPHET, R. A serological survey of leptospirosis in cats. **New Zealand Veterinary Journal**, v.27, n.11, p.236, 245-246, 1979.
66. SHOPHET, R.; MARSHALL, R.B. An experimentally induced predator chain transmission of *Leptospira ballum* from mice to cats. **British Veterinary Journal**, v.136, n.3, p.265-270, 1980. 23.
67. SHROPSHIRE, S.B.; VEIR, J.K.; MORRIS, A.K.; LAPPIN, M.R. Evaluation of the *Leptospira* species microscopic agglutination test in experimentally vaccinated cats and *Leptospira* species seropositivity in aged azotemic client-owned cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.18, n.10, p.768-772, 2016.
68. SONJA, O.; SONJA, R.; NATASA, E.; DANICA, B.; SLOBODANKA, V.; MIROSLAV, V. Seroprevalence of cat leptospirosis in Belgrade (Serbia). **Acta veterinária**, v.64, n.4, p.510-518, 2014.
69. SYKES, J.E.; HARTMANN, K.; LUNN, K.F.; MOORE, G.E.; STODDARD,



R.A.; GOLDSTEIN, R.E. 2010 ACVIM Small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.25, p.1-13, 2011.

70. TALEBKHAN GAROUSSI, M.; MEHRAVARAN, M.; ABDOLLAHPOUR, G.; KHOSHNEGAH, J. Seroprevalence of leptospiral infection in feline population in urban and dairy cattle herds in Mashhad, Iran. **Veterinary Research Forum**, v.6, n.4, p.301-304, 2015.

71. TORTEN, M.; SHENBERG, E.; VAN DER HOEDEN, J. The role of birds in the epidemiology of leptospirosis. **Tropical and Geographical Medicine**, v.17, p.353-358, 1965.

72. TRUONG, Q.L.; SEO, T.W.; YOON, B.I.; KIM, H.C.; HAN, J.H.; HAHN, T.W. Prevalence of swine viral and bacterial pathogens in rodents and stray cats captured around pig farms in Korea. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.75, n.12, p.1647-1650, 2013.

73. TUZIO H, EDWARDS D, ELSTON T, JARBOE L, KUDRAK S, RICHARDS J, RODAN I. Feline zoonoses guidelines from the American Association of Feline Practitioners. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.7, p.243-274, 2005.

74. UHART, M.M.; RAGO, V.; MARULL, C.A.; FERREYRA, H-D-V.; PEREIRA, J.A. Exposure to selected pathogens in Geoffroy's cats and domestic carnivores from Central Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**. v.48, n.4, p.899-909, 2012.

75. ULLMANN, L.S.; HOFFMANN, J.L.; DE MORAES, W.; CUBAS, Z.S.; DOS SANTOS, L.C.; DA SILVA, R.C.; MOREIRA, N.; GUIMARAES, A.M.S.; CAMOSSI, L.G.; LANGONI, H.; BIONDO, A.W. Serologic Survey For *Leptospira* spp. In Captive Neotropical Felids in Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.43, n.2, p.223-228, 2012.

76. VAN DE MAELE, I.; CLAUS, A.; HAESBROUCK, F.; DAMINET, S.

Leptospirosis in dogs: a review with emphasis on clinical aspects. **Veterinary Record**, v.163, n.14, p. 409-413, 2008.

77. VASHI, N.A.; REDDY, P.; WAYNE, D.B.; SABIN, B. Bat-Associated Leptospirosis. **Journal of General Internal Medicine**, v.25, n.2, p.162-164, 2010.

78. WEIS, S.; RETTINGER, A.; BERGMANN, M.; LLEWELLYN, J.R.; PANTCHEV, N.; STRAUBINGER, R.K.; HARTMANN, K. Detection of *Leptospira* DNA in urine and presence of specific antibodies in outdoor cats in Germany. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.19, n.4, p.470-476, 2017.

## ANEXO VII-NORMAS DA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

## Semina: Ciências Agrárias

USER

[Home](#) > [About the Journal](#) > [Submissions](#)

Submissions

- [Online Submissions](#)
- [Author Guidelines](#)
- [Copyright Notice](#)
- [Privacy Statement](#)

Online Submissions

Already have a Username/Password for Semina: Ciências Agrárias?

[GO TO LOGIN](#)

Need a Username/Password?

[GO TO REGISTRATION](#)

Registration and login are required to submit items online and to check the status of current submissions.

Author Guidelines

Articles submitted after 28/02/2020 that are accepted and approved for publication will be subject to a Publication Fee, adjusted according to the number of pages in the manuscript.

up to 10 pages: **R\$ 400,00**11 to 15 pages: **R\$ 500,00**16 to 20 pages: **R\$ 600,00**21 to 25 pages: **R\$ 700,00**If the article is accepted for publication, the amount of R \$ 110.00 paid for **the submission fee will not be deducted from the publication fee.**The **proof of deposit** should be scanned and annexed as a supplementary file in the electronic system.

The deposit should be made in the name of the Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, in one of the three bank accounts below:

**Banco do Brasil (001)**

Branch: 1212-2

Current account: 43509-0 - Brasil

**Editorial standards for publishing in Semina: Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL)****Articles can be submitted in Portuguese or English, but will only be published in English.**Articles that are submitted in Portuguese, if accepted for publication, will have to be **translated into English.**

All articles, after being accepted for publication, must be accompanied by a proof certificate of translation or correction (as a supplementary file) from one of the following translation services:

[American Journal Experts](#)[Editage](#)[Elsevier](#)<http://www.proof-reading-service.com><http://www.academic-editing-services.com/><http://www.publicase.com.br/formulario.asp><http://www.stta.com.br/><https://www.traduzoo.com/>The lead author must attach the **document that provides evidence of** this translation or correction in the electronic system on the submission page in "**Docs. Sup.**"**COMMENTS:**

1) Original manuscripts submitted for review are initially assessed by the Editorial Committee of **Semina: Ciências Agrárias**. In this assessment, quality requirements for publishing with the journal will be evaluated, such as the scope of the article, suitability about the journal standards, quality of writing and theoretical foundation. Additionally, it is also considered literature review update, consistency, and accuracy of the methodology, the contribution of the results, discussion of the data observed in the study, table and figure depiction, and originality and consistency of conclusions.

If the number of submitted manuscripts exceeds the assessment and publication capacity of **Semina: Ciências Agrárias**, a comparison between submissions will be made, and the works considered to have the highest contribution potential to scientific knowledge will be directed to ad hoc advisors. The manuscripts that are not approved by these criteria are archived, whereas the remaining manuscripts are subjected to assessment by at least two scientific advisors who are experts in the subject area of the manuscript, without identifying the authors. The submission fee will not be returned to authors who have their manuscripts archived.

2) Where appropriate, if the research project that originated the article was performed according to biosafety and ethics technical standards under approval from an ethics committee involving humans and/or an ethics committee involving animals, the commission name, institution, and process number should be stated.

**MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED WHEN:**

a) The attached main article file has the names of the authors and their respective affiliations.  
b) The **complete registration** of all authors has not been added to the metadata during submission; for **Example** Full name; Institution/Affiliation; Country; Summary of Biography/Title/Role.

c) Text explaining the relevance of the work (importance and distinction from previously published works), with a maximum length of 10 lines, is not included in the field COMMENTS TO THE EDITOR.

d) The submission is not accompanied by a document proving payment of the submission fee as a supplementary file in the "**Docs. Sup.**" section.

e) The main article is not accompanied by supplementary files, including graphs, figures, photos, and other documents, IN THEIR ORIGINAL VERSION (JPEG, TIFF, or EXCEL formats).

f) The following information is not included in the original manuscript: title, abstract, keywords in Portuguese and English, tables, and figures.

**RESTRICTIONS BY SUBJECT AREA:**

**FOR THE AGRONOMY FIELD, MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:**

a) The experiments conducted with an **in vitro** culture are limited to the improvement of protocols already standardized or do not provide new information about the subject area;

b) The field experiments do not include data corresponding to at least two years or diverse locations within the same year;

c) The experiments refer only to tests about the efficiency of commercial products against biotic and abiotic agents of physiological stress;

d) The experiments involve only bioassays (screening) on the efficacy of methods for controlling insects, mites, or diseases in plants unless they contain an important contribution about the action mechanisms under the perspective of a frontier of knowledge; or

e) The objective is limited to registering the occurrence of a species of a plague or pathogen or associations with hosts in new locations within geographical regions where the species is already known. Documenting already known species or associations will only be considered if they are described in new ecological areas. The distribution records should be based on ecosystems and not on political boundaries.

**FOR THE VETERINARY FIELD, THE MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:**

a) Publication of case reports is restricted; only articles with great relevance and originality that make a real contribution to the advance of knowledge in the field will be selected for processing.

**Work Categories**

a) Scientific articles: maximum of 20 pages, including figures, tables, and bibliographic references

b) Scientific communications: maximum of 12 pages, with bibliographic references limited to 16 citations and a maximum of two tables, two figures, or a combination of one table and one figure

c) Review articles: maximum of 25 pages, including figures, tables, and bibliographic references

**Presentation of the Work**

Complete original articles, communications, case reports, and reviews should be written in Portuguese or English using Microsoft Word for Windows, on A4-size paper, with lines numbered per page, 1.5 spacing between lines, Times New Roman font, size 11 normal, 2 cm margins on all sides, with pages numbered on the upper right corner and following the guidelines for the maximum number of pages according to the category of the work.

**Figures (drawings, graphics, and photographs) and tables** should be numbered with Arabic numerals, should be included at the end of the work immediately after the bibliographic references, and should be cited within the text. Also, the figures must be of good quality and must be attached in their original format (JPEG, TIFF, etc.) in Docs Sup on the submission page. Figures and tables

will not be accepted if they do not comply with the following specifications: width of 8 cm or 16 cm with a maximum height of 22 cm. If the figure has greater dimensions, it will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions.

**Note:** Figures (Ex. **Figure 1.** Title) and tables (**Table 1.** Title) should have a width of 8 cm or 16 cm with a maximum height of 22 cm. Those with greater dimensions will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions. For any tables and figures that are not the author's original work, a citation to the source consulted is mandatory. Place this citation below the table or figure and indicate using a smaller font (Times New Roman 10).

Ex: "**Fonte**": IBGE (2017), or **Source**: IBGE (2017).

### **Manuscript preparation**

#### **Scientific article:**

Scientific articles should report results of original research on the related areas, with the sections organized in the following way: Title in English; Title in Portuguese; Three to five Highlights; Abstract in English with keywords (maximum six words, in alphabetic order); Abstract in Portuguese with keywords (maximum six words, in alphabetical order); Introduction; Materials and Methods; Results and Discussion; Conclusions; Acknowledgements; Suppliers, if applicable; and Bibliographic References. The headings should be in boldface without numbering. If there is a need to include a subheading within a section, it should be placed in italics, and if there are further sub-topics to include under a sub-heading, these should be numbered with Arabic numerals.

(Example: **Materials and Methods, Areas of study, 1. Rural area, 2. Urban area.**)

The submitted work cannot have been published elsewhere with the same content, except in the form of an Abstract in Scientific Events, Introductory Notes, or Reduced Format.

#### **The work should be presented in the following order:**

- 1. Title of the work**, accompanied by its translation in Portuguese, if appropriate.
- 2. Three or five highlights**, it consists result-oriented points that provide readers an overview of the main findings of your article. Each Highlight must be 85 characters or fewer.
- 3. Abstract and Keywords:** An informative abstract with a minimum of 200 words and a maximum of 400 words must be included, in the same language used in the text of the article, accompanied by an English translation (**Abstract and Keywords**) if the text has not been written in English.
- 4. Introduction:** The introduction must be concise and contain only the review that is strictly necessary to introduce the topic and support the methodology and discussion.
- 5. Materials and Methods:** This section may be presented in a continuous, descriptive way or with sub-headings to allow the reader to understand and be able to repeat the methodology cited with or without the support of bibliographic citations.
- 6. Results and Discussion: This section** must be presented clearly, with the aid of tables, graphs, and figures, so that it does not raise any questions for the reader concerning the authenticity of the results and points of view discussed.
- 7. Conclusions: These** must be clear and presented according to the objectives proposed in the work.
- 8. Acknowledgments:** People, institutions, and companies that contributed to the work should be mentioned at the end of the text, before the Bibliographic References section.

#### **Note:**

**Notes:** Each note regarding the body of the text must be indicated with a superscripted symbol immediately after the phrase it concerns and must be included as a footnote at the end of the page.

**Figures:** Should be inserted at the end of the article, one on each page, after the references. The figures that are deemed essential will be accepted and should be cited in the text by their numeric order, in Arabic numerals. If any submitted illustrations have already been published, the source and permission for publication should be stated.

#### **Tables:**

Should be inserted at the end of the article, one on each page, after the references. Tables should be accompanied by a header that will allow an understanding of the data collected without the need to use the body of the text for reference.

#### **Quantities, units, and symbols:**

- a) Manuscripts should be in agreement with the criteria established in the International Codes for each subject area.
- b) Use the International System of Units in all text.
- c) Use the negative power format to note and present related units: e.g., kg ha<sup>-1</sup>. Do not use the forward-slash symbol to relate units: e.g., kg/ha.
- d) Use a simple space between units: g L<sup>-1</sup>, not g.L<sup>-1</sup> or gL<sup>-1</sup>.
- e) Use 24-hour time representation with four digits for the hours and minutes: 09h00, 18h30.

#### **8. In-text author citations**

The APA Rules use the author-date system for indirect citations, that is, the author's last name, comma, and year of publication. The page number is only entered when there is a direct citation. In this case, the surname of the cited author, comma, year, comma followed by "p." And the page number

When in the citations, the authors are outside the parentheses, always use "e" (Portuguese); "And" (English) and "y" (Spanish); to separate the penultimate from the last cited author. The "&" is always inserted between the penultimate and last author when cited in parentheses and references.

**Citation:**

**A Work by Two Authors:** Name both authors in the signal phrase or parentheses each time you cite the work. Use the word "and" between the authors' names within the text and use the ampersand in parentheses.

**Ex:**

The results by Wegener and Petty (1994) confirmed that...

(Wegener & Petty, 1994)

**A Work by Three to Five Authors:** List all the authors in the signal phrase or parentheses the first time you cite the source. Use the word "and" between the authors' names within the text and use the ampersand in parentheses.

**Ex:**

Almeida, Parisi and Pereira (1999, p. 379)

or Almeida, Parisi and Pereira (1999, pp. 372-373)

or (Almeida, Parisi, & Pereira, 1999, p. 73)

Kernis, Cornell, Sun, Berry e Harlow (1993)

(Kernis, Cornell, Sun, Berry, & Harlow, 1993)

In subsequent citations, only use the first author's last name followed by "et al." in the signal phrase or in parentheses.

(Kernis et al., 1993)

Example: **citation model with one, six or more authors**

**Figure 1**  
**Basic In-text Citation Styles**

| Type of Citation                          | Signal Phrase   |                          | Parenthetical Reference                                      |                          |
|---|---|--------------------------|--|--------------------------|
|   | 1 <sup>st</sup> Use of Source                               | Subsequent use of Source | 1 <sup>st</sup> Use of Source                                | Subsequent use of Source |
| 1-2 authors                               | Minosso and Toso (2019)                                     | Minosso and Toso (2019)  | (Minosso & Toso, 2019)                                       | (Minosso & Toso, 2019)   |
| 3-5 authors                               | Lopes, Meier and Rodrigues (2019)                           | Lopes et al. (2019)      | (Lopes, Meier, & Rodrigues, 2019)                            | (Lopes et al., 2019)     |
| 6 or more authors                         | Werner et al. (2017)  | Werner et al. (2017)     | (Werner et al., 2017)  | (Werner et al., 2017)    |
| Organization w/ identifiable abbreviation | Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia (IBICT) (2018) | IBICT (2018)             | (Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia [IBICT], 2018) | (IBICT, 2018)            |
| Organization w/o abbreviation             | Simply Cats (2019)  | Simply Cats (2019)       | (Simply Cats, 2019)  | (Simply Cats, 2019)      |

Two or More Works by the Same Author in the Same Year - use lower-case letters (a, b, c) with the year to order the entries in the reference list. Use the lower-case letters with the year in the in-text citation.

**Ex:** (Porter, 1999a, 1999b, 1999c)

Authors With the Same Last Name: To prevent confusion, use first initials with the last names. (E. Johnson, 2001; L. Johnson, 1998)

Two or More Works by the Same Author with different publication dates. (Chronological order)

Ex: Segundo Porter (1986, 1991, 1999, 2000),

**Reference example:**

**All the authors participating in a referenced study must be mentioned, regardless of the number of participants.**

**Article:**

Berndt, T. J. (2002). Friendship quality and social development. **Current Directions in Psychological Science**, **11**, 7-10.

**More Than one Author - List by their last names and initials. Use the ampersand instead of "&."**

Adair, J. G., & Vohra, N. (2003). The explosion of knowledge, references, and citations: Psychology's unique response to a crisis. *American Psychologist*, **58**(1), 15–23. doi: 10.1037/0003-066X.58.1.15

**Electronic Article:**

Santos, C. P., & Fernandes, D. H. von der (2007). A recuperação de serviços e seu efeito na confiança e lealdade do cliente. *RAC-letrônica*, **1**(3), 35-51. Retrieved from [http://anpad.org.br/periodicos/content/frame\\_base.php?revista=3](http://anpad.org.br/periodicos/content/frame_base.php?revista=3)

**Book**

Kashdan, T., & Biswas-Diener, R. (2014). **The upside of your dark side**. New York, NY: Hudson Street Press.

**Book Chapter**

Serviss, G. P. (1911). A trip of terror. In **A Columbus of space** (pp. 17-32). New York, NY: Appleton.

**Electronic Book Chapter**

Shuhua, L. (2007). The Night of Midautumn Festival. In J. S. M. Lau & H. Goldblatt (Eds.), **The Columbia Anthology of Modern Chinese Literature** (pp. 95-102). New York, NY: Columbia University Press. Retrieved from <https://www.worldcat.org/title/columbia-anthology-of-modern-chinese-literature/oclc/608153696>

**Annals/Proceedings**

Costa, E. R., & Boruchovitch, E. (2001). Entendendo as relações entre estratégias de aprendizagem e a ansiedade. *Anais da XXXI Reunião Anual de Psicologia* (p.203). Ribeirão Preto, SP: Sociedade Brasileira de Psicologia.

**A printed thesis and/or dissertation**

Leon, M. E. (1998). **Uma análise de redes de cooperação das pequenas e médias empresas do setor das telecomunicações**. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

**Electronic thesis or dissertation**

Hirata, C. A. (2016). **Microbiologia agrícola, Microorganismos do solo, Fungos micorrízicos, Microorganismos fixadores de nitrogênio, Ecologia microbiana**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil. Retrieved from <http://www.bibliotecadigital.uel.br>

**Organization as Author**

American Psychiatric Association. (1988). **DSM-III-R, Diagnostic and statistical manual of mental disorder** (3rd ed. rev.). Washington, DC: Author.

**Law**

Lei n. 11.638, de 28 de setembro de 2007. Altera e revoga dispositivos da Lei n. 6.404, de 15 de dezembro de 1976, e da Lei n. 6.385, de 7 de dezembro de 1976, e estende às sociedades de grande porte disposições relativas à elaboração e divulgação de demonstrações financeiras. Retrieved from [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2007/lei/l11638.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11638.htm)

The accuracy and adequacy of references for works that have been consulted and mentioned in the text of the article, as well as opinions, concepts, and statements, are entirely the responsibility of the authors.

**Note:** Consult recently published issues of *Semina: Ciências Agrárias* for more details about how to format references in the article.

The remaining categories of works (Scientific Communication and Review) must follow the above-mentioned standards but with the following additional directions for each category:

**Scientific communication**

Scientific communications must be presented concisely but with a complete description of the term research or ongoing research (Introductory note), with complete bibliographic documentation and methodologies, similar to a regular scientific article. Scientific communications must contain the following sections: Title (in Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; and Body of the text. The body of the text should not be divided into sections but should follow this sequence: introduction, methodology, results, and discussion (tables and figures may be included), conclusion, and bibliographic references.

**Bibliographic review articles**

Review articles must involve relevant topics within the scope of the journal. The number of review articles per issue is limited, and authors can only write review articles of interest to the journal, following an invitation by the editorial board members of the journal. If a review article is submitted by an author, the inclusion of relevant results from the author or the group involved in the study is required, along with bibliographic references demonstrating experience and knowledge about the topic.

A review article must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Development of the proposed topic (the text may be divided into sections, but this is not required); Conclusions or Final Considerations; Acknowledgements (if applicable); and Bibliographic References.

#### **Other important information**

1. The publication of articles depends on the favorable opinion of ad hoc advisors and the approval of the **Semina: Ciências Agrárias** UEL Editorial Board.
2. Reprints will not be given to the authors since the issues will be available online at the journal's website (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Copyright transfer: The authors agree with the transfer of publication rights of the manuscript to the journal. The reproduction of the articles is only allowed when the source is cited. Commercial use of the information is forbidden.
4. Unforeseen questions about or problems in the present standards will be addressed by the Editorial Board of the subject area in which the article was submitted for publication.
5. **The number of authors:** There is no limit to the number of authors, but people included as co-authors should have effectively participated in the study. People with limited participation in the study or the article preparation should be cited in the Acknowledgements section, as should institutions that granted scholarships and other financial resources.
6. Include the ORCID of all authors approved for publication. The ORCID identifier can be obtained from the ORCID record. You must accept the standards for ID ORCID presentation and include the full URL (for example <http://orcid.org/0000-0002-1825-0097>).

#### **Submission conditions**

As part of our submission process, the authors should verify that the submission conforms to all of the items listed below. Submissions that are not in compliance with the standards will be rejected and the authors informed about the decision.

1. The authors should state that the contribution is original and new and that it is not being assessed for publication elsewhere; any exception(s) should be justified in the "Comments to the Editor."
2. The authors should also state that the material is correctly formatted and that the Supplementary Documents are attached, BEING AWARE that the **incorrect format will result in the SUSPENSION of the evaluation process WITHOUT EVALUATION OF MERIT.**
3. **Authoring data for all of the authors should be entered in the Metadata field during the submission process.**

Use the button "include author."

1. **In the following step, please fill in the metadata in English.**

To include the data, after saving the submission data in Portuguese, click on "edit metadata" at the top of the page. Change the language to English and insert the title in English, the abstract, and keywords. Save and continue to the next step.

1. The **authorship identification** of the work should be removed from the archive and Word using the "Properties" option to ensure the anonymity criteria of the journal, in case the article is subjected to peer review, according to the directions available at Ensuring a blind peer review.
2. The files for submission should be in Word, OpenOffice, or RTF format (as long as they do not exceed 2 MB).

The text should be typed on A4 paper, with numbered lines, 1.5 line spacing, and Times New Roman size 11 font.

1. Confirm that all ethical standards were followed if the research was performed with living beings. Include proof documents of approval by an institutional ethics committee involving humans and/or an ethics committee involving animals, if these documents are requested.
2. **Include the payment of the [Submission Fee](#), and attach the proof of payment as a supplementary document in "Docs. Sup."**

#### **Copyright Declaration**

The **Copyright Declaration** for articles published in this journal is the author's right. Since the articles published in this journal are open access, the articles may be used freely, with their attributions, for educational and non-commercial purposes.

The journal has the right to make changes on a normative, orthographic, and grammatical level in the original articles, to maintain proper standard use of the language and the credibility of the journal. Nevertheless, the writing style of the authors will be respected.

Alterations, corrections, or suggestions at a conceptual level, when necessary, will be directed to the authors.

The opinions expressed by the authors of the articles are their exclusive responsibility.

#### **Privacy Policy**

The names and affiliations reported in this journal are used exclusively for the services provided and are not made available for any other purpose or to third parties.

#### **Submission conditions**

As part of our submission process, the authors are obliged to ensure that the submission conforms to all of the items listed below. Submissions that are not in compliance with the standards will be returned to the authors.

1. The authors state that the contribution is original and new and that it is not being assessed for publication in another journal; any exception(s) should be justified in the "Comments to the Editor."
2. The authors state that the material is correctly formatted and that the Supplementary Files were uploaded, BEING AWARE that the **incorrect format will result in the SUSPENSION of the evaluation process WITHOUT EVALUATION OF MERIT.**
3. **In the next step, fill in the metadata in English.**

To include metadata, after saving the submission data in Portuguese, click on "**edit metadata**" at the top of the page. Change the language to English and insert the title in English, the abstract, and keywords. Save and go to the next step.

1. **Authorship data from all authors should be filled in during the submission process.**

Use the button "**include author.**"

1. Verify that the **authorship identification** of the work has been removed from the archive and from Word using the Properties option to ensure the anonymity criteria of the journal if the article is submitted to peer review according to the directions available at Ensuring a blind peer review.
2. The files for submission are in Word, OpenOffice, or RTF formats (as long as they do not exceed 2 MB).

The text is written with 1.5 line spacing and in Times New Roman size 11 font. Use italics instead of underline (except for URL addresses).

The text follows the style patterns and bibliographic requirements described in [Guidelines for Authors](#) under the heading "About the Journal."

1. Confirm that all ethical standards were followed if the research was performed with living beings. Provide documentation of the approval of an institutional ethics committee and proof of informed consent if these documents are requested. Compliance with the applicable ethical precepts should be cited in the text body.
2. A text indicating the relevance of the work (importance and distinction concerning other works already published), with a maximum length of 10 lines, must be included in the field **COMMENTS TO THE EDITOR.**

#### Copyright Declaration

The **Copyright Declaration** for articles published in this journal is the author's right. Since the articles that are published in this journal are open access, the articles may be used freely, with their attributions, for educational and non-commercial purposes.

The journal has the right to make changes on a normative, orthographic, and grammatical level in the original articles, to maintain proper standard use of the language and the credibility of the journal. Nevertheless, the writing style of the authors will be respected.

Alterations, corrections, or suggestions at the conceptual level, when necessary, will be directed to the authors. In these cases, after being charged, the articles will be subjected to a new assessment.

The opinions expressed by the authors of the articles are their exclusive responsibility.

#### Privacy Policy

The names and affiliations reported in this journal are used exclusively for the services provided and are not made available for any other purpose or to third parties.

Should they be both highlighted **and** in boldface? Or should this just read "The headings should be in boldface"?

It seems this sentence and the following sentence (after "1.") should perhaps be switched for clarity, as follows:

**Using the following steps, please fill in the metadata in English.**

1. **Use the button "include author."**



**Por favor, reveja os títulos e a ordenação / numeração dos passos nesta seção cuidadosamente para garantir que os passos estão numerados claramente na ordem que os autores devem segui-los.**

Como a sentença indica "caso o artigo seja submetido a revisão por pares", parece desnecessário incluir (ex.: artigos) aqui. Por favor, considere excluir isso.

Deve haver um item numerado separado com uma explicação da taxa de submissão? Em caso afirmativo, forneça as informações apropriadas. Se não, considere excluir isso.

#### Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo considerada para publicação em outro periódico; caso contrário, deve ser justificado em "Comentários ao Editor".
2. Informamos que o texto está formatado corretamente e que o Material Complementar será carregado, TENDO EM CONTA que a formatação incorreta implicará em uma SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO
3. Os arquivos de submissão estão no formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não excedam 2MB).  
O espaçamento entre linhas deve ser definido como 1,5; a fonte é Time New Roman, tamanho 11; usa itálico em vez de sublinhado (exceto para endereços de URL);  
O texto segue o estilo e os requisitos de referência descritos em "Orientações dos autores", na seção "Sobre o periódico".
4. **Na etapa subsequente, os metadados devem ser fornecidos em português.**
  - o **Para** incluí-los, depois de salvar os dados de submissão em inglês, clique em "editar metadados" no topo da página - mude o idioma para o português e insira: título em português, resumo e palavras-chave. Salve e continue com a próxima etapa.
5. As informações de autoria para todos os autores devem ser fornecidas no momento da submissão.  
Use a opção " **incluir autor.** "
6. A identidade do autor foi removida do arquivo e da opção "Propriedades" no Word, garantindo assim que os critérios de confidencialidade da revista sejam atendidos, caso seja enviada para revisão por pares (por exemplo, manuscritos), de acordo com as instruções listadas em "Garantindo a Cegueira". Revisão por pares. "
7. Declaro que todos os regulamentos éticos foram seguidos, no caso de pesquisas com organismos vivos, e possuo os documentos que demonstram aprovação pelo Comitê de Ética e pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, caso sejam solicitados. O cumprimento dos princípios éticos aplicáveis deve ser citado no texto.
8. At Editor Comments the authors need add three possible doctor reviewers. Name, Institution, and e-mail need to be added.
9. **Taxa de submissão para artigos**

#### Copyright Notice

O Copyright dos manuscritos publicados pertence ao periódico. Como são publicados em um periódico de acesso aberto, eles estão disponíveis gratuitamente, para uso privado ou para fins educacionais e não comerciais.

A revista tem o direito de fazer, no documento original, alterações referentes às normas lingüísticas, ortografia e gramática, com o objetivo de garantir as normas padrão do idioma e a credibilidade da revista. No entanto, respeitará o estilo de escrita dos autores.

Quando necessário, alterações conceituais, correções ou sugestões serão encaminhadas aos autores. Nesses casos, o manuscrito deve ser submetido a uma nova avaliação após revisão. A responsabilidade pelas opiniões expressas nos manuscritos é inteiramente dos autores.

#### Privacy Statement

The names and email addresses entered in this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.