



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

WERONA DE OLIVEIRA BARBOSA FERNANDES

**DETECÇÃO SOROLÓGICA DA LEPTOSPIROSE, TOXOPLASMOSE E
LEISHMANIOSE EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*) DE VIDA LIVRE**

MOSSORÓ-RN
2015

WERONA DE OLIVEIRA BARBOSA FERNANDES

DETECÇÃO SOROLÓGICA DA LEPTOSPIROSE, TOXOPLASMOSE E
LEISHMANIOSE EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*) DE VIDA LIVRE

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), como exigência final para obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas – UFERSA

Coorientador: Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes – UFERSA

MOSSORÓ-RN
2015

WERONA DE OLIVEIRA BARBOSA FERNANDES

DETECÇÃO SOROLÓGICA DA LEPTOSPIROSE, TOXOPLASMOSE E
LEISHMANIOSE EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*) DE VIDA LIVRE

Dissertação apresentada à Universidade Federal
Rural do Semi-árido (UFERSA), como exigência
final para obtenção do título de Mestre no Curso de
Pós-Graduação em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Aprovação em 30 de julho de 2015

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas - UFERSA
(Orientador - Presidente)



Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes – UFERSA
(Coorientador - Segundo membro)



Prof. Dra. Simone Almeida Gavilan Leandro da Costa -UERN
(Terceiro membro)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

WERONA DE OLIVEIRA BARBOSA FERNANDES. Nasceu na cidade de Uiraúna-PB, no dia 18 de outubro de 1986. Ingressou no Ensino Superior no ano de 2007, onde cursou Bacharelado em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), atuando junto ao grupo de pesquisa de Biologia Celular e Molecular com ênfase em doenças infectocontagiosas e formando-se em 2012. No ano de 2013 deu início ao Mestrado no Programa de Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) na linha de pesquisa de Sanidade Animal com ênfase em Imunologia de Animais Silvestres. Em 2014, tornou-se especialista em Gestão do Trabalho e Educação na Saúde pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Atualmente atua na área de Conservação da Fauna Marinha, junto ao Projeto Cetáceos da Costa Branca (Areia Branca, RN).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela saúde e pela fé que em mim plantou.

Aos meus pais, Severino (Biu) e Francisca (Bebé) que através de muita coragem e vontade de vencer me proporcionaram tudo que precisei pra chegar até aqui, em especial, a força de vontade de vencer. Neles tenho um espelho de dedicação, determinação e perseverança.

À minha irmã, Werena, gêmea nada idêntica, a qual me ajudou, além de muitas outras etapas da minha vida, em especial, durante a minha gravidez. Mesmo ausente, sempre presente.

À minha irmã mais velha, Wanêssa, a meiguice em forma de mulher. Sempre com palavras de força e orgulho que me ajudaram a superar muitos dias difíceis.

Ao meu esposo Jansenn José, que nunca mediu esforços para a realização deste sonho, que sempre foi um dos maiores incentivadores para que conseguisse realizar todos os meus objetivos. Me ensinou a viver com saudade, mas com felicidade. A superar a distância visando a esperança de chegar sempre mais longe e se superar cada vez mais. Meu sincero agradecimento, acima de tudo, pela paciência e pelo amor.

Ao meu filho Jansenn Gustavo, que me deu uma nova vida. Que me fez querer ser sempre melhor, por você e pra você. Obrigada meu filho, por entender a minha ausência e mesmo assim me amar tanto, me querer tanto. Obrigada por ser tão doce e tão carinhoso. Obrigada por todas as vezes que fala “Te amo, mamãe”. São palavras que me dão mais força pra seguir e te proporcionar sempre o melhor. Toda esta distância em breve irá se acabar e ser compensada, prometo.

Ao meu professor orientador, Dr. Carlos Iberê Alves Freitas, o qual mesmo sem me conhecer depositou sua confiança em mim, e me ajudou na realização deste grande sonho, ser mestre. Serei eternamente grata pelo seu apoio e respeito. Por entender minhas ausências e minhas dificuldades de estar sempre presente. Saiba que dei o meu melhor.

Ao meu coorientador, Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes, que desde o primeiro contato se tornou um grande parceiro deste trabalho, como pessoa e profissional. Obrigada pelo incentivo e grande apoio.

A todos os colegas do Laboratório de Estudos em Imunologia de Animais Silvestres (Leias), que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e por terem me acolhido junto a equipe de vocês.

Aos meus chefes e colegas de trabalho do Projeto Cetáceos da Costa Branca, os quais estiveram ao meu lado nos momentos de tristeza e de alegria, me dando força pra que tudo desse sempre certo. Vocês foram essenciais.

A meu presente Potiguar, Fernanda Cristina, menina doce que ensinou a olhar pra vida com o mesmo amor que ela nos olha. A encarar tudo como dádiva e graça de Deus. Que me trouxe uma nova luz. A você, meu especial agradecimento, por acompanhar de perto (bem perto), todas as etapas deste trabalho e me ajudar nas menores e maiores coisas para sua realização, fossem pessoais ou profissionais. Você é grande parte deste trabalho e parte maior ainda da minha vida.

As minhas amigas e colegas de apartamento Rafaelly (Rafa), Natália (Nat) e Emanuelly (Manu). Sem vocês, os dias longe de casa teriam sido muito mais difíceis. Vocês foram minha família. Obrigada por estarem sempre presentes.

Aos meus amigos que conquistei ao longo deste curso, Talita, Thiago, Sabrina, Simone, Rebeca e Carol, os *pebinhas* mais queridos que pude ter o prazer de conviver. Obrigada pela confiança e ajuda, nas descontrações e no trabalho.

Enfim, a todos os meus amigos da minha terrinha Uiraúna, que apesar de poucos, me suprem em tudo que preciso, em seu carinho sincero.

*“Cada pessoa é aquilo que crê;
Fala do que gosta;
Retém o que procura;
Ensina o que aprende;
Tem o que dá e
Vale o que faz.”*

(Chico Xavier)

DETECÇÃO SOROLÓGICA DA LEPTOSPIROSE, TOXOPLASMOSE E LEISHMANIOSE EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*) DE VIDA LIVRE. FERNANDES, Werona de Oliveira Barbosa. Detecção sorológica da leptospirose, toxoplasmose e leishmaniose em tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) de vida livre. 2015. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Sanidade Animal). Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró-RN, Brasil. 2015.

RESUMO: O aumento do contato entre a população humana e doméstica com os animais silvestres tem contribuído para disseminar agentes infecciosos na vida selvagem, aumentando assim, os riscos de transmissão das zoonoses. O número de enfermidades já relatadas nas diferentes espécies de tatus é muito alta. Acredita-se, portanto, que o *E. sexcinctus* possa atuar como reservatório de uma série de doenças, muitas delas ainda não confirmadas para espécie. Isso ocorre por esta espécie apresentar diversas características compatíveis com a manutenção dos agentes na natureza, tais como, suas características fisiológicas, ampla distribuição, partilhar suas tocas com outras espécies e manter contato direto com o homem e animais domésticos. Com isso, este estudo objetivou detectar, a partir de diferentes técnicas sorológicas, a presença de anticorpos *anti-Leptospira spp.*, *anti-Toxoplasma gondii* e *anti-Leishmania infantum* nos tatus-peba, de vida livre. Para tanto, foram utilizados 33 tatus da espécie *Euphractus sexcinctus*, de ambos os sexos e variadas idades provenientes da cidade de Mossoró-RN. Dos 33 animais submetidos às análises sorológicas, 2/33 (6,06%) foram positivos para leptospirose. Um deles reagiu para o sorovar Canicola (200) e outro para o sorovar Andamana (200). Para a pesquisa de toxoplasmose, 2/33 (6,06%) apresentaram anticorpos *anti-Toxoplasma gondii*, todos apresentando título igual a 400. Em relação à leishmaniose, 3/33 (9,09%) animais foram reativos para o antígeno *L. infantum*, todos apresentando título de 320. Esta foi a primeira evidência de anticorpos *anti-Leishmania infantum* em *Euphractus sexcinctus* já descrita. A partir do presente estudo, foi possível confirmar a real possibilidade destes animais atuarem como portadores de agentes com potencial zoonótico.

Palavras-chave: *Euphractus sexcinctus*; zoonoses; sorologia; *Toxoplasma gondii*; *Leptospira spp.*; *Leishmania infantum*

DETECTION OF ANTI-LEPTOSPIRA SPP., ANTI-TOXOPLASMA GONDII AND ANTI-LEISHMANIA INFANTUM ANTIBODIES IN FREE RANGE SIX-BANDED ARMADILLO (*Euphractus sexcinctus*). FERNANDES, Werona de Oliveira Barbosa. Detecção sorológica da leptospirose, toxoplasmose e leishmaniose em tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) de vida livre. 2015. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Sanidade Animal). Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró-RN, Brasil. 2015.

ABSTRACT: The increasing contact between humans and domestic animals with wild animals has contributed to spread infectious agents, thus increasing the risk of transmission of zoonosis. Therefore, this present study aimed to detect, using different serological techniques, the presence of anti-*Leptospira* spp., anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Leishmania infantum* in six-banded armadillos. For this, was used 33 species of wildlife armadillos *Euphractus sexcinctus* of both sexes and various ages from the city of Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. Of the 33 animals subjected to serological analysis, 2/33 (6.06%) were positive for leptospirosis, where serovars reagents were Canicola and Andamana, and both with titration of 200. For the toxoplasmosis research it was noted that 2/33 (6.06%) had antibodies to *Toxoplasma gondii*, and all of them having the title equal to 400. In relation to leishmaniasis, 3/33 (9.09%) animals were reactive to *Leishmania infantum* antigen, which had the title of 320. This was the first evidence of *Leishmania infantum* in six-banded armadillo already described. From the present study, we can confirm the real possibility of these animals act as carriers agent with zoonotic potential.

Keywords: *Euphractus sexcinctus*; zoonosis; serology; *Toxoplasma gondii*; *Leptospira* spp.; *Leishmania infantum*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Principais áreas de ocorrência do tatu-peba (<i>E. sexcinctus</i>) no Brasil.....	19
Figura 2-	Tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>).....	20
Figura 3-	Glândulas odorífera (A); placas móveis (B).....	21
Figura 4-	Ciclo biológico do <i>Toxoplasma gondii</i>	25
Figura 5-	Ciclo biológico da leishmaniose.....	40
Figura 6-	Coleta de sangue via veia femoral em tatu-peba (<i>E. sexcinctus</i>).....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti- <i>Leptospira spp.</i> em tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>).....	53
Tabela 2-	Associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>).....	53
Tabela 3-	Associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti- <i>Leishmania infantum</i> em tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>).....	54

LISTA DE SIGLAS

SAM	Soro Aglutinação Microscópica
MAT	Teste de Aglutinação Modificado
DAT	Teste de Aglutinação Direta
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
SL	Solução de Locke
ml	ml – mililitro
µl	Microlito
Ig	Imunoglobulina
pH	potencial hidrogeniônico
IUCN	International Union for the Conservation of Nature
OMS	Organização Mundial de Saúde
CDC	Centers for Disease Control and Prevention

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISAO DE LITERATURA.....	16
2.1 AGENTES ZOONÓTICOS EM ANIMAIS SILVESTRES	16
2.2 TATU-PEBA (<i>Euphractus sexcinctus</i>).....	17
2.3 TOXOPLASMOSE	22
2.3.1 Etiologia.....	22
2.3.2 Aspectos genéticos	22
2.3.3 Patogenia e transmissão	24
2.3.4 Diagnóstico	26
2.3.5 Toxoplasmose em animais silvestres.....	28
2.3.6 Toxoplasmose e saúde pública	30
2.4 LEPTOSPIROSE	31
2.4.1 Etiologia.....	31
2.4.2 Aspectos genéticos	32
2.4.3 Patogenia e transmissão	32
2.4.4 Diagnóstico	33
2.4.5 Leptospirose em animais silvestres	35
2.4.6 Leptospirose e saúde pública.....	36
2.5 LEISHMANIOSE VISCERAL	37
2.5.1 Etiologia.....	37
2.5.2 Aspectos genéticos	38
2.5.3 Patogenia e Transmissão	39
2.5.4 Diagnóstico	41
2.5.5 Leishmaniose e animais silvestres	42
2.5.6 Leishmaniose e saúde pública	43
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 ÁREA DE ESTUDO	46
3.2 AMOSTRAS.....	46
3.3 COLETA DO SANGUE.....	47
3.4 SOROLOGIA	47
3.4.1 Soroaglutinação Microscópica (SAM) para leptospirose	48

3.4.2 Teste de Aglutinação Modificado (MAT) para toxoplasmose.....	49
3.4.3 Teste de aglutinação direta (DAT) para leishmaniose.....	50
3.5 ANÁLISE DOS DADOS.....	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
REFERENCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

Os tatus são mamíferos de hábitos terrestres, fossoriais e considerados assoriais (solitários). Vivem em tocas por eles escavadas e apresentam hábitos noturnos, motivo pelo qual pouco sabe-se sobre sua ecologia e biologia. O consumo de sua carne é comum, sendo ainda, a sua carapaça utilizada para confecção de utensílios domésticos. O tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) é uma espécie de ampla distribuição geográfica, ocorrendo nas porções nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil. No semiárido brasileiro, *E. sexcinctus* é a espécie de tatu com a maior área de ocorrência.

O aumento do contato entre a população humana e doméstica com os animais silvestres tem contribuído para disseminar agentes infecciosos na vida selvagem, aumentando assim, os riscos de transmissão das zoonoses. Desta forma, as zoonoses expandem seu número de hospedeiros e sua distribuição geográfica, não sendo diferente para os tatus, os quais são capazes de albergar patógenos com potencial zoonótico.

O número de enfermidades já relatadas nas diferentes espécies de tatus é muito alta. Acredita-se, portanto, que o *E. sexcinctus* possa atuar como reservatório de uma série de doenças, muitas delas ainda não confirmadas para espécie, contudo, já relatadas e caracterizadas em outros dasipodídeos, tais como o tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*). Isto é possível devido estas espécies apresentarem diversas características compatíveis com a manutenção dos agentes na natureza.

Com isso, este estudo objetivou detectar, a partir de diferentes técnicas sorológicas, a presença de anticorpos anti-*Leptospira spp.*, anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leishmania infantum* nos tatus-peba, de vida livre, provenientes do município de Mossoró-RN, podendo assim, contribuir para uma melhor compreensão acerca dos riscos a qual estão sujeitos aqueles que mantém o hábito de caça, se alimentam desta espécie ou que, de alguma forma, estejam em contato direto ou indireto com estes animais.

2 REVISAO DE LITERATURA

2.1 AGENTES ZOONÓTICOS EM ANIMAIS SILVESTRES

Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), zoonoses são “doenças transmissíveis naturalmente entre os animais vertebrados e os seres humanos”, sendo, os animais silvestres, hospedeiros de uma grande variedade de parasitos, inclusive de alguns agentes zoonóticos, podendo transmiti-los através da urina, sangue, secreções, fezes, artrópodes ou fômites infectados (SIEMERING, 1993; HUBALEK, 2003).

O pouco conhecimento sobre as doenças que ocorrem no mundo selvagem tem sido alvo de discussões durante anos, sendo a insuficiência de dados sobre a distribuição dos agentes um dos principais motivos desta escassez de informações (CAÑÓN-FRANCO et al., 2013).

Estudos recentes confirmaram que mais da metade dos patógenos que afetam o homem são zoonoses ou tornaram-se zoonoses após sofrerem adaptações nos seres humanos (WOOLHOUSE; GOWTAGE-SEQUERIA, 2005; TAYLOR et al., 2001; WOLFE et al., 2007). Apontam ainda que os animais silvestres encontram-se em crescente contato com grande parte destes agentes patogênicos.

A transmissão de agentes zoonóticos entre animais silvestres se dá, além do contato direto com outros hospedeiros, de forma indireta, via fecal-oral, através da ingestão de alimentos e água contaminados ou mesmo a partir de aglomerados destes animais em recintos, como é o caso, por exemplo, de espécies mantidas em cativeiro (QUEIROZ, 2008; NUNES, 2007; NUNES, et al., 2010).

Mudanças no habitat natural podem se representar como um fator determinante no desencadeamento de infecções (COLES, 1984; QUEIROZ, 2008), além disso, o aumento do contato entre a população humana e doméstica com os animais silvestres tem contribuído para disseminar agentes infecciosos na vida selvagem, aumentando assim, os riscos de transmissão das zoonoses, a partir da expansão do número de reservatórios e da sua distribuição geográfica (CORRÊA & PASSOS, 2001).

Além de amplamente distribuídos no meio ambiente, diversos microrganismos encontram-se naturalmente na flora intestinal dos animais selvagens. Portanto, à medida que se sobrepõem a flora normal do seu organismo, estes podem causar diferentes doenças, principalmente em condições de estresse e diminuição da imunidade do

hospedeiro (PELCZAR JÚNIOR, et al., 1996; LEVINSON; JAWETZ, 1996; QUEIROZ, 2008).

Levantamentos sobre presença de agentes infecciosos na fauna silvestre nos permite conhecer a situação sanitária dos animais selvagens, sejam eles cativos ou de vida livre. Estes agentes podem acarretar mudanças nos fatores epidemiológicos de diversas enfermidades uma vez que apresentam inter-relações com os animais doméstico e com o homem. Com relação a animais de cativeiro, por exemplo, é de fundamental importância o estudo contínuo destes patógenos, com a finalidade de se elaborar o manejo ideal destas espécies, diminuindo sua vulnerabilidade a determinadas patologias. Um ambiente mal higienizado tem papel fundamental na instalação de novas infecção ou do desenvolvimento de infecções pré-existentes caso os animais estejam imunologicamente debilitados (HIDASI, 2010; QUEIROZ, 2008).

O número de enfermidades já relatadas nas diferentes espécies de tatus é muito alta. Acredita-se, portanto, que o *E. sexcinctus* possa atuar como reservatório de uma série de doenças, muitas delas ainda não confirmadas para espécie, contudo, já relatadas e caracterizadas em outros dasipodídeos, tais como o tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*) (DEPS et al. 2007, DEPS et al. 2008, RICHINI-PEREIRA et al. 2009, ANTUNES et al. 2009, ANTUNES et al. 2012, FROTA et al. 2012, OROZCO et al. 2013). Isso ocorre por esta espécie apresentar diversas características compatíveis com a manutenção dos agentes na natureza, tais como, suas características fisiológicas, ampla distribuição, partilhar suas tocas com outras espécies e manter contato direto com o homem e animais domésticos.

O desmatamento e consequente perda de habitat dos animais silvestres é um dos fatores contribuintes para a disseminação de zoonoses, tais como a leptospirose e toxoplasmose, tendo em vista que este fato ocasiona a migração destes animais para setores peridomiciliares (SILVA et al., 2008).

2.2 TATU-PEBA (EUPHRACTUS SEXCINCTUS)

A superordem Xenarthra (anteriormente conhecida como Edentata) é constituída atualmente por tamanduás, preguiças e tatus. Recentemente, ela foi desmembrada em duas ordens: Cingulata (corpo recoberto por osteodermos, compreendendo os tatus) e Pilosa (corpo recoberto por pelos composta pelas preguiças e tamanduás) (GARDNER, 2005).

Reino: Animalia
Filo: Chordata
Classe: Mammalia
Superordem: Xenarthra
Ordem: Cingulata
Família: Dasypodidae
Subfamília: Euphractinae
Gênero: *Euphractus*
Espécie: *Euphractus sexcinctus*

O termo Edentata significa “desdentado”, contudo, apenas os tamanduás são desprovidos de dentes. O nome atual, portanto, foi dado pela presença de articulações adicionais entre as vértebras lombares, conhecidas como “xenarthrales” ou “xenarthrous process”. A etimologia do nome Xenarthra vem de *xênon* = estranho, e *arthros* = articulação (MEDRI *et al.*, 2006).

A Superordem Xenarthra contém 31 espécies distribuídas em 13 gêneros, 2 ordens e 4 famílias, possuindo representantes cuja origem e distribuição geográfica são restritos à região Neotropical, e ocorrem predominantemente na América do Sul (FONSECA; AGUIAR, 2004; MEDRI, 2008), com exceção da espécie *Dasypus novemcinctus* sendo o único a ocorrer na América do Norte (MCKENNA; BELL, 1997).

A família Dasypodidae é composta atualmente por oito gêneros, vinte e uma espécies, e cinco subespécies (GARDNER, 2007) sendo onze delas encontradas no Brasil (EISENBERG; REDFORD 1999; MEDRI *et al.*, 2006;). O *Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758 é a única espécie do gênero *Euphractus* Wagler, 1830, conhecido popularmente como tatu-peba, tatu-peludo, tatu-amarelo ou tatu-cascudo (GARDNER, 2005).

De acordo com a *International Union for Conservation of Nature* - IUCN (2014), o tatu-peba não é considerado uma espécie em extinção. Na lista vermelha de animais ameaçados de extinção, o *E. sexcinctus* é considerado como uma espécie pouco preocupante. Isso se deve a sua ampla distribuição e o fato de sua ocorrência se dá em áreas de preservação.

O tatu-peba apresenta uma distribuição geográfica muito diversificada ocorrendo nas porções nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, além das áreas adjacentes da

Bolívia, Suriname, Paraguai, Uruguai e Argentina (NOWAK, 1999, REDFORD & WETZEL, 1985; WETZEL, 1985). Existe também uma população disjunta na região de fronteira entre o Brasil e o Suriname (WETZEL, 1985), ocorrendo ainda no Amapá e Pará (leste do Amazonas) (SILVA JUNIOR & NUNES, 2001).

No Brasil, a espécie está presente em diferentes biomas como Amazônico, Caatinga, Cerrado, Pantanal, Mata Atlântica e Campos Sulinos (FONSECA *et al.*, 1996; EISENBERG & REDFORD 1999; ANACLETO *et al.*, 2006) (Figura 1).



Figura 1 – Principais áreas de ocorrência do tatu-peba (*E. sexcinctus*) no Brasil. Fonte: Adaptado de Eisenberg & Redford, 1999.

No Brasil, existem registros da presença do *E. sexcinctus* no Pará, Piauí, Ceará, Maranhão, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Bahia, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul (SILVA JUNIOR & NUNES, 2001; SOUSA E SILVA JÚNIOR *et al.*, 2001; GONÇALVES DE ANDRADE *et al.*, 2006, LIMA *et al.*, 2009). No semiárido brasileiro, *E. sexcinctus* é a espécie de tatu com a maior área de ocorrência, seguido do tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*) (SILVA *et al.*, 2003).

Estes animais apresentam algumas características físicas que tornam possíveis a sua distinção de outras espécies de dasipodídeos, tais como, orelhas bem curtas e cabeça pontuda e achatada, a qual se torna triangular em direção ao focinho e é protegida por

grandes placas irregulares, formando uma carapaça dorsal córnea (NOWAK, 1999) (Figura 2).

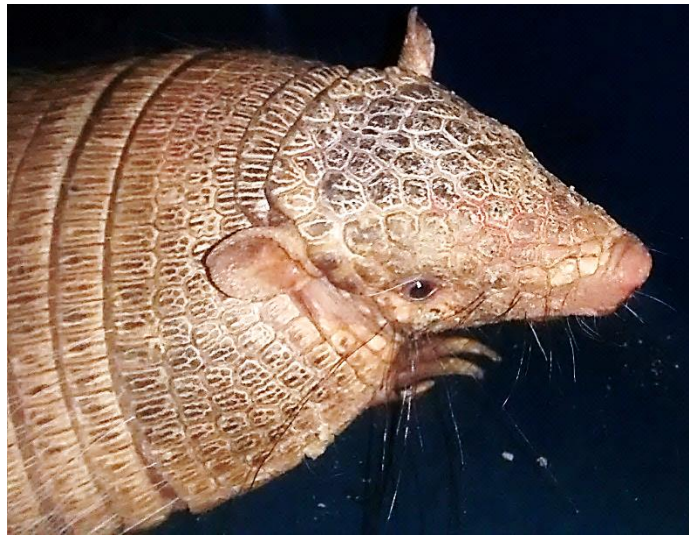


Figura 2- Tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*). Arquivo pessoal.

Sua carapaça é composta por uma armadura de seis a oito bandas móveis que recobrem o corpo (DEEM; FIORELLO, 2002) e podem apresentar colorações que variam do castanho-amarelado ao castanho-claro. Estas espécies podem pesar entre 3,0-6,5 kg e viver em torno de 18 anos, dado este observado apenas em cativeiro. Apresentam, próximo a base da cauda, uma abertura glandular odorífera, responsável por liberar o odor característico da espécie a qual está, ainda, diretamente relacionado com a liberação de feromônios durante o período reprodutivo (COSTA et al., 2014) (Figura 3).

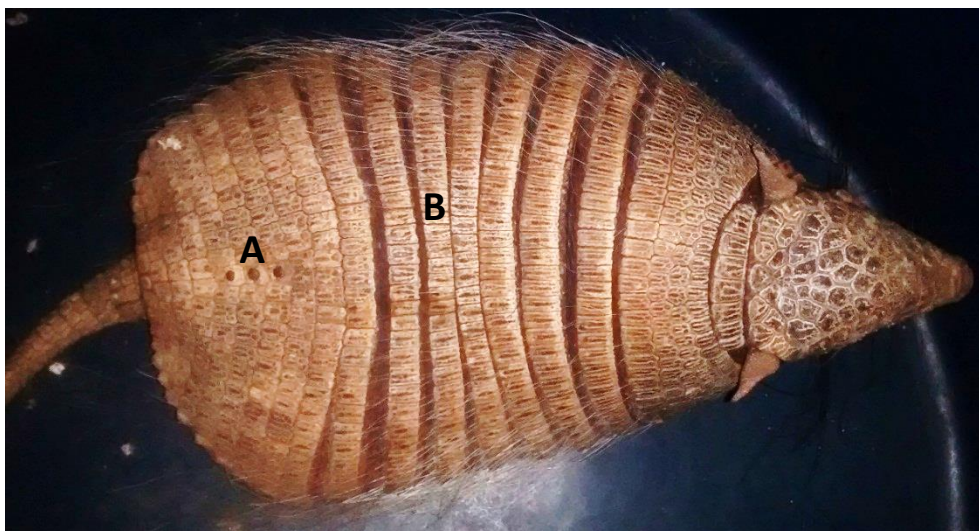


Figura 3- Glândulas odoríferas (A); placas móveis (B). Arquivo pessoal

Apesar de não apresentar boa visão, tem um ótimo olfato, o qual torna-se essencial para realizar sua busca de alimento. São considerados onívoros e sua dieta consiste basicamente de insetos e plantas, contudo, podem se alimentar de restos de outros animais em decomposição, sendo considerados, portanto, um animal generalista. Por esta razão alguns caçadores costumam manter estes animais em cativeiro com dieta controlada, como objetivo de “limpar” o seu trato digestivo, podendo, desta forma, ser consumido pelos seres humanos (ALVES et al., 2012). Por isso, apesar de serem frequentemente caçados para alimentação em populações rurais, em algumas regiões não são considerados como a espécie preferida de tatu no que diz respeito ao sabor, sendo caracterizado como “sujo” (NERIS *et al.*, 2002) e de sabor forte (REDFORD, 1994). Diferente do observado, por exemplo, no Rio Grande do Norte, onde estes animais, além de bastante utilizados para alimentação, são considerados, por muitos, como uma iguaria. Sendo comum, ainda, a utilização de sua carapaça para fins artesanais e confecção de utensílios domésticos (PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2003).

Eles são encontrados em áreas abertas tais como savanas e florestas úmidas ou secas. Seu habitat consiste em tocas de aproximadamente 2 metros cavadas por eles mesmos (REDFORD; WETZEL, 1985). Estas tocas são motivos de muitos acidentes, como por exemplo, em cavalos, os quais podem vir a ter fraturas ao cair dentro delas. Estes indivíduos são capazes de se adaptar muito bem a possíveis modificações no seu habitat induzidas pelo homem, tendo sido observado em plantações de cana de açúcar e áreas de agricultura de subsistência (DOTTA; VERDADE, 2011), contudo, eles podem

causar grandes prejuízos a plantações de milho por se alimentarem dos brotos, motivo este pelo quais são muitas vezes caçados e mortos por agricultores (CARTÉS, 2007; EMMONS, 1999).

Apresentam hábitos noturnos e solitários exceto no período reprodutivo quando podem ser encontrados formando grupos (MEDRI, 2006). A maturidade sexual é atingida, em ambos os sexos, entre 9 a 12 meses de idade (FREITAS et al., 2014) e o período de gestação da fêmea dura em torno de 60 a 65 dias. No período sexual, os machos tendem a desenvolver um comportamento de dominância, tornando-se mais agressivos e realizando perseguições às fêmeas (FREITAS et al., 2014). Neste período tem sido observado ainda, em cativeiro, comportamento agonista do macho, o qual apresenta diminuição da ingestão de água e maior inquietação no recinto assumindo uma postura bípede durante a maior parte do tempo (FERNANDES et al., 2014).

Assim como as demais espécies da Superordem Xenarthra, os tatus são considerados hospedeiros de patógenos que causam doenças infecciosas e zoonóticas devido suas características fisiológicas, ampla distribuição, partilhar suas tocas com outras espécies e manter contato com o homem. Portanto, assim como os animais domésticos, as espécies silvestres, contribuem para manter as zoonoses circulantes na natureza (RICHINI-PEREIRA et al., 2009).

2.3 TOXOPLASMOSE

2.3.1 Etiologia

A toxoplasmose é uma antroponose causada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário apicomplexo de parasitismo intracelular obrigatório. Pertence à família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae e gênero *Toxoplasma* (SERCONDES, 2010).

O *T. gondii* pode infectar mamíferos e aves, os quais atuam como hospedeiros intermediários, enquanto os membros da família dos felídeos, como o gato doméstico (*Felis catus*) desempenham o papel de hospedeiros definitivos (PINTO et al., 2009).

2.3.2 Aspectos genéticos

As diferentes linhagens do *Toxoplasma gondii* apresentam diversas similaridades antigênicas e morfológicas, bem como semelhanças na sua patogenicidade e virulência, variando de acordo com o hospedeiros infectado. Com isso, diversos estudos moleculares tem sido realizados para caracterizar genotipicamente os diferentes isolados do patógeno, podendo-se, desta forma, descrever as diferentes subpopulações deste protozoário nos animais e seres humanos, em diversas regiões do Brasil e do mundo (SILVEIRA, 2009; YAI, 2007).

Na Europa, África e América do Norte os isolados são classificados dentro de cepas genéticas e consiste predominantemente de três linhagens denominadas tipo I, II e III (SU et al., 2010). A propagação do agente se dá primariamente através de reprodução clonal a partir de recombinação sexual entre as diferentes cepas do parasita. Este fato foi evidenciado através dos isolamentos de cepas com genótipos idênticos de diferentes hospedeiros, das mais variadas regiões geográficas, revelando assim, uma variação genética de menos de 1% entre elas.

A distribuição e as linhagens genotípicas detectadas no Brasil são distintas das citadas anteriormente. Os marcadores moleculares que possibilitaram determinar esta diversidade genética de cepas no Brasil foram: SAG1, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico e CS3. Após realização de bioensaios em camundongos e isolamento do agente, as cepas encontradas foram então denominadas BrI, BrII, BrIII e BrIV. O isolado do tipo BrI foi considerado como cepa virulenta, o BrIII não-virulenta e os tipos BrII e BrIV, como virulentos intermediários (PENA et al., 2008).

A virulência das cepas pode ser estimada a partir da observação após inoculação em camundongos onde são consideradas altamente virulentas em casos onde apenas um parasita é capaz de matar o camundongo. Nestes casos, o parasita multiplica-se rapidamente causando a infecção aguda; pouco virulentas, em casos onde ocorra a infecção crônica, sem a utilização de tratamento específico; ou de virulência intermediária, quando um parasita não é capaz de ser letal ao camundongo, contudo, é necessário altas doses de medicação para que o animal não venha á óbito (BIÑAS & JOHNSON, 1998).

Estudos sobre o polimorfismo do genoma deste parasita tem permitido diversos avanços no conhecimento sobre a estrutura da população do *T. gondii*. Por isso, é de extrema importância investigar a relação existente entre o genótipo do agente e as manifestações clínicas da doença, seja em animais em humanos, tendo em vista a possibilidade destas se relacionarem com as linhagens patogênicas.

2.3.3 Patogenia e transmissão

A infecção em seres humanos e animais se dá através da ingestão de oocistos, os quais podem estar presentes no meio ambiente, em alimentos contaminados com fezes de felídeos infectados ou, ainda, através da ingestão de bradizoítos, forma do protozoário encontrada em hospedeiros cronicamente infectados (SILVA et al., 2008).

O *T. gondii* possui um ciclo de vida heteróximo apresentando três fases distintas, podendo estar sob a forma de taquizoíto (forma infectante), bradizoíto (cisto tecidual) e esporozoíto (oocisto) (Figura 4). O processo pode ocorrer de forma assexuada, onde os hospedeiros suscetíveis podem se infectar com os bradizoítos (cistos), esporozoítos (oocistos maduros) ou taquizoítos. Ao atingirem a luz do tubo gastrointestinal e atravessarem a mucosa, eles multiplicam-se rapidamente no meio intracelular na forma de taquizoítos, podendo invadir vários tipos celulares do organismo formando vacúolos parasitóforos, no interior do qual se dividem por endodiogenia (processo no qual duas células filhas são formadas dentro da célula mãe), originando, assim, novos taquizoítos, os quais promovem a lise da célula infectada e invadem novas células. Os taquizoítos disseminam-se no organismo através da linfa ou do sangue, na fase inicial da doença, caracterizada como proliferativa, representando a fase aguda da infecção. Caso a resposta imune consiga impedir a multiplicação dos taquizoítos, serão formados os cistos tissulares (bradizoítos), representando assim a forma crônica da doença (KAWAZOE, 2005).

Pode ocorrer ainda sob a forma sexuada (ciclo enteroepitelial ou ciclo coccidiano), onde as três formas parasitárias ao penetrar no epitélio intestinal (intestino delgado) do hospedeiro definitivo, resultando na formação de oocistos. Os esporozoítos, bradizoítos, ou taquizoítos penetram no epitélio intestinal (principalmente nas vilosidades do íleo), multiplicam-se por endodiogenia e dão origem aos merozoítos, estes por sua vez, formam vacúolos parasitóforos, rompem as células epiteliais infectadas e dão início a infecção em outras células de mesma origem. Neste momento, os merozoítos geram formas sexuais masculinas e femininas, dando início a fase sexuada do ciclo enteroepitelial. Estas formas sofrem um processo de mutação e dão origem a microgametas (gametas masculinos - móveis) e macrogametas (gametas femininos - imóveis). Os microgametas, por sua capacidade móvel, deixam sua célula de origem e fecundam os macrogametas no interior de uma célula epitelial, originando o zigoto, este forma uma parede externa dupla e evolui para oocisto. Ainda imaturo, o

oocisto é liberado após o rompimento da célula epitelial, sendo eliminado junto as fezes do felídeo. Já no meio ambiente, sob condições adequadas de maturação (cerca de 2 a 5 dias), o oocisto passa por um processo de esporogonia produzindo em seu interior dois esporozoítos, contendo cada um quatro esporozoítos e uma massa residual citoplasmática. Após a maturação, caso o oocisto seja ingerido, torna-se infectante ao animal suscetível. Em situações de temperatura e umidade adequadas, o oocisto pode se manter viável no ambiente por cerca de 18 meses (DUBEY, 2010).

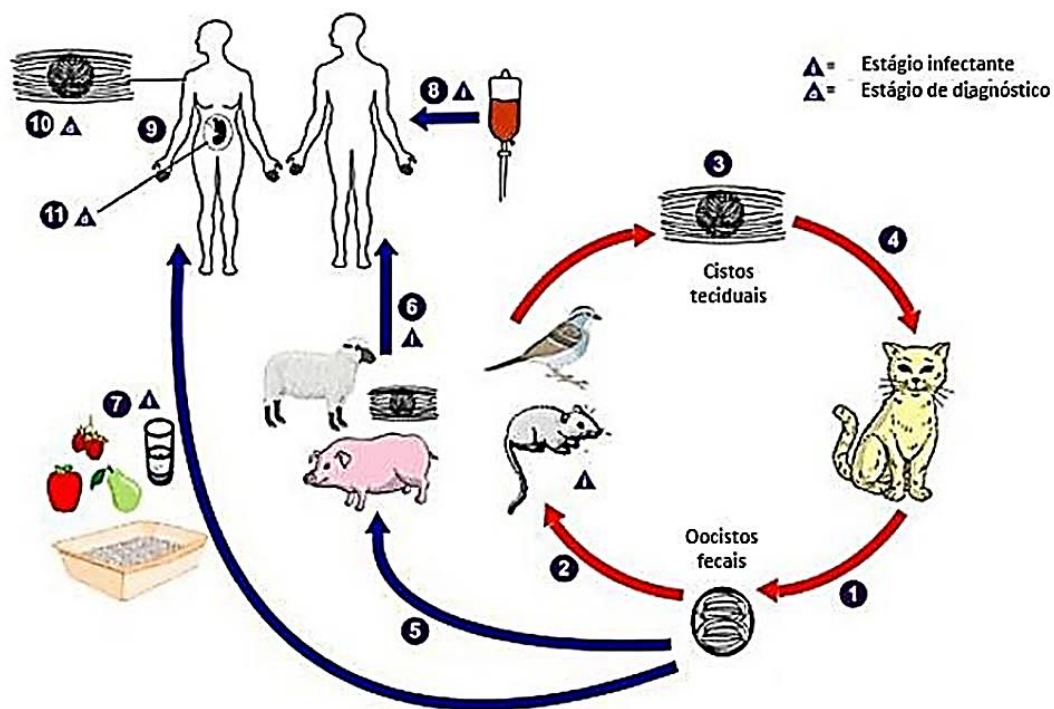


Figura 4: Ciclo biológico do *Toxoplasma gondii*. Fonte: Adaptado do CDC - Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2015).

Todas as fases de desenvolvimento do parasita são consideradas infecciosas tanto para o hospedeiro intermediário quanto definitivo, os quais podem adquirir a doença de forma horizontal, por ingestão oral dos oocistos esporulados presentes no ambiente e através da ingestão de carne crua ou mal cozida ou ainda pela forma vertical a partir da transmissão placentária dos taquizoítos via congênita. Sabe-se ainda que os taquizoítos podem ser transmitidos através do leite materno ou adquirido via transfusões

sanguíneas e transplantes de doadores infectados ou mesmo por inoculação acidental durante manipulação em laboratórios (TENTER et al., 2000; CDC, 2015).

2.3.4 Diagnóstico

Assim como nos seres humanos, a toxoplasmose em animais domésticos e silvestres podem assumir quadros clínicos inespecíficos, sendo, portanto, cabível de confundir com diversas outras enfermidades. Por este motivo, faz-se necessário a utilização de um diagnóstico laboratorial específico para a detecção direta ou indireta do agente (VIDOTTO, 1992).

A utilização da cultura *in vitro* pode ser utilizada como método diagnóstico, contudo, é bastante onerosa e demanda bastante tempo para se obter os resultados esperados. O isolamento pode ser feito a partir de culturas celulares com células de mamíferos, embrião de galinha (O *T. gondii* não é capaz de se multiplicar em meios de cultura acelulares) ou por método tradicional de inoculação (camundongos, coelhos, cobaias e hamsters), sendo preferível a inoculação camundongos por serem mais suscetíveis a inoculação peritoneal, podendo gerar milhões de taquizoítos por mililitro em torno de apenas 3 dias (AMATO NETO et al., 1995; DUBEY, 1993; KOMPALIC-CRISTO et al., 2005).

Os testes de detecção direta por métodos moleculares também têm sido amplamente utilizados. Sua principal vantagem é detectar a presença do agente no tecido analisado com maior precisão e sensibilidade, contudo, não são viáveis para utilização de rotina, tendo em vista seu alto custo de realização. Além disso, existe uma limitação para detecção deste parasito, em especial, pois o teste não poderá distinguir se o material genético amplificado provém de formas viáveis do parasita ou dos fragmentos do mesmo (AFSSA, 2005).

O diagnóstico definitivo mais utilizado atualmente para detecção da toxoplasmose é o diagnóstico sorológico (KOMPALIC-CRISTO et al., 2005). A partir dele é possível mensurar a presença da imunoglobulina G (IgG) ou imunoglobulina M (IgM) anti-*Toxoplasma-gondii*, as quais possibilitam determinar se houve, ou não, exposição do indivíduo ao agente (CDC, 2015), contudo, devido a prevalência de altos títulos de anticorpos IgG e a persistência de anticorpos IgM específicos entre indivíduos normais é difícil definir o momento da infecção (BERTOZZI et al., 1999).

As principais técnicas sorológicas utilizadas são: a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o Teste de Aglutinação Modificada (*Modified Agglutination Test* – MAT), sendo o RIFI utilizado como padrão-ouro com títulos considerados positivos a partir de 1:16 (ESTEBAN-REDONDO; INNES, 1998).

A RIFI é considerada sensível e específica, onde os anticorpos IgM podem ser detectados, em casos de infecção aguda, uma a duas semanas após o início da infecção, alcançando o pico máximo após 6 a 8 semanas, declinando a partir de então. Contudo, títulos baixos podem persistir por até 12 meses. A detecção da IgG se dá em casos tardios onde seus níveis diminuem gradativamente, porém, podem permanecer durante toda a vida do hospedeiro.

O Teste de Aglutinação Modificada (*Modified Agglutination Test* - MAT) apresenta diversas vantagens, tais como, boa sensibilidade e especificidade, além da facilidade de execução e possibilidade de ser executada para diferentes espécies animais, domésticas e silvestres (DUBEY, 1996; DUBEY, 2002). A MAT é capaz de detectar apenas o IgG, pois o 2-mercaptoetanol (2ME) utilizado no teste inativa as IgM específicas e não específicas. O MAT permite, ainda, diferenciar as IgGs de fase aguda e crônica da infecção a partir da inativação de taquizoítos pela formalina (MAT-AF) ou acetona (MAT-AA) (WILSON et al., 1990).

A partir do MAT-AA pode-se obter a remoção de determinados antígenos da membrana da célula ou alteração destes de tal forma que não apresentem reação cruzada com os antígenos de bradizoítos. A proliferação dos taquizoítos ocorre apenas nos estágios iniciais da infecção, desta forma, a resposta imunogênica direcionada contra os taquizoítos ocorre somente no estágio agudo da infecção, permitindo ao MAT inativado pela acetona diagnosticar este estágio (SILVA, 2006).

Enquanto o MAT-AA permite diagnosticar apenas antígenos da fase aguda da infecção, o MAT-AF, por sua vez, permite que os anticorpos reajam contra antígenos de fase aguda (27kDa) como os de fase crônica (35kDa). Desta forma, a utilização concomitante dos dois testes permite determinar a fase da infecção (SILVA, 2006).

Estas técnicas têm assumido importante papel na detecção da toxoplasmose por permitir determinar anticorpos de vários isótopos diferentes em função do conjugado utilizado, contudo, podem apresentar falhas na detecção da IgG e IgM nos casos em que a infecção encontra-se na fase ativa, devendo, nesse casos, serem associados a sinais clínicos ou a realização da pesquisa direta do antígeno, a fim de se obter o estágio de infecção pelo parasita.

Esfregaços sanguíneos podem ser realizados e corados com Giemsa, contudo, o tropismo do *T. gondii* por diferentes tecidos do organismo inviabiliza a detecção direta do protozoário por métodos tradicionais, gerando resultados falso negativos na maioria dos casos. É possível realizar, ainda, cortes histológicos a partir de materiais provenientes de biópsia e corá-los com hematoxilina-eosina (NEVES, 1985).

Ao escolher o teste diagnóstico a ser utilizado é importante considerar as variações de sensibilidade, especificidade e valores preditivos para uma análise mais precisa. Nos últimos anos, o papel da IgA e IgE teve importante valor a partir da utilização destas imunoglobulinas como marcadores de fase aguda os quais permitem determinar a fase da infecção. Isto foi possível tendo em vista que nos testes imunoenzimáticos tradicionais de captura, a permanência destas imunoglobulinas tem sido muito menor do que a IgM, a qual pode durar entre poucas semanas até anos (HALL, 1992; CAMARGO, 1996).

2.3.5 Toxoplasmose em animais silvestres

O papel dos animais selvagens na cadeia epidemiológica da toxoplasmose ainda não está completamente elucidado. Apesar das evidências sorológicas da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais selvagens, há poucos estudos ainda sobre o envolvimento destes animais na epidemiologia da enfermidade e pouco se sabe acerca da susceptibilidade destas variadas espécies ao parasito (CAÑÓN-FRANCO et al., 2013; VITALIANO et al., 2014).

Na última década, o impacto das espécies de vida selvagem na transmissão e epidemiologia da toxoplasmose tem sido o foco de muitos estudos. Estabelecer a diversidade genética da população do parasita tem sido um dos principais avanços neste assunto. No Brasil, tem sido realizado vários estudos envolvendo detecção molecular, sorologia e isolamento de *T. gondii* em mamíferos, sendo muitas destas pesquisas realizadas em animais selvagens (CARNEIRO et al., 2013; SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2013; VITALIANO et al., 2014; CAÑÓN-FRANCO et al., 2013; SCHENK et al., 1976). Tais estudos foram conduzidos sob diferentes aspectos e em diferentes regiões do país, demonstrando assim, que o *T. gondii* é capaz de infectar mamíferos selvagens com potencial risco para animais ou humanos.

A quantidade de oocistos de *T. gondii* que os gatos podem eliminar através das fezes é considerada relativamente alta, contudo, a dificuldade de realizar este

diagnóstico é devido ao curto período de tempo de excreção (aproximadamente três semanas) e o fato de que outras eliminações possam vir a ocorrer posteriormente (DUBEY; FRENKEL, 1972). Nos felídeos selvagens, por exemplo, esta eliminação está relacionada a episódios de diarreia (DORNY; FRANSEN, 1989; LUKEŠOVÁ; LITERÁK, 1998; ARAMINI et al., 1998). Portanto, pouco se sabe sobre a quantidade e período de eliminação da forma infectante por estes animais de forma natural (CAÑÓN-FRANCO et al., 2013). Contudo, mesmo na ausência dos felídeos domésticos como hospedeiros definitivos, sabe-se que os felídeos selvagens podem desempenhar o mesmo papel sendo assim considerados como fator de risco para a transmissão e manutenção do ciclo silvestre (CAÑÓN-FRANCO et al., 2013). Fezes concentradas em uma área em que exista contato direto com animais suscetíveis irão facilitar, de alguma forma, a transmissão e manutenção do ciclo silvestre de *T. gondii*.

Estudos apontam ainda que a reprodução assexuada nos hospedeiros intermediários é responsável pela expansão clonal do *T. gondii*, sendo, portanto, suficientes para manutenção do ciclo selvagem do parasita, nos quais, em ausência do felídeo, atravessam a cadeia alimentar através do carnivorismo (WENDTE et al., 2011).

A taxa de infecção pelo carnivorismo é proporcional a prevalência dos coccídeos nos animais predados. Ou seja, teoricamente, todas as espécies de diferentes níveis biológicos podem conter cistos dos parasitas, mas existem diferenças na prevalência de acordo com a preferência biótica do animal (estritamente arbórea, arbórea e terrestre ou estritamente terrestre) (AJZENBERG et al., 2007).

Enquanto isso, os níveis de infecção dos animais predados estão relacionados a espécies suscetíveis, a contaminação do ambiente pelos oocistos e a sua vida útil (THOISY et al., 2003; CARME et al., 2002). No caso dos tatus, que são animais que vivem em tocas, ou outros animais de vida terrestre eles estão mais expostos ao *T. gondii* enquanto que as espécies com uma vida útil mais curta possuem uma menor probabilidade de exposição ao agente.

A evidencia sorológica de *T. gondii* em animais silvestres aponta a ocorrência do parasita no ciclo silvestre, o qual conserva a doença no ambiente, bem como a possibilidade da infecção de animais domésticos e humanos, seja pela inserção de animais silvestres no ambiente ou pelo significativo contato com animais silvestres em ambientes domésticos ou peridomiciliares (SILVA et al. 2006).

2.3.6 Toxoplasmose e saúde pública

Dentre os coccídeos, o *T. gondii* é um dos agentes zoonóticos mais estudados devido seu grande impacto na saúde pública (TENTER et al., 2010; MUÑOZ-ZANZI et al., 2010). A toxoplasmose já foi relatada em animais e seres humanos do mundo todo, sendo considerada, portanto, uma zoonose cosmopolita.

A prevalência da infecção pelo *T. gondii* em humanos é alta. Estima-se que um terço da população mundial apresente a forma crônica da doença possuindo anticorpos contra o parasita. As infecções causadas pelo agente da toxoplasmose ocorrem principalmente nas áreas mais quentes, de clima úmido e de baixas altitudes, podendo afetar, em alguns casos, até 95% da população (CDC, 2015).

No Brasil, a infecção pelo *T. gondii* em humanos já afeta 50% das crianças e 80% das mulheres em idade fértil já apresentam sorologia reativa para este protozoário, indicando que, pelo menos uma vez na vida, já entraram em contato com o agente (DUBEY et al., 2012).

Dentre os fatores envolvidos na infecção humana pelo *T. gondii* estão o consumo de carnes cruas ou mal cozidas, a faixa etária, fatores climáticos, fatores socioeconômicos e culturais, ingestão de verduras e legumes crus, água potável de origens diversificadas, e manipulação de areia de forma indiscriminada (DIAS et al., 2011; LOPES et al., 2009; CADEMARTORI, 2007). Desta forma, as diferentes fontes potenciais de infecção ainda não são totalmente elucidadas, podendo variar de acordo com a população estudada (MONTROYA; LIESENFELD, 2004; DUBEY et al., 2012; FIALHO et al., 2009). Em áreas rurais, por exemplo, um importante fator de risco da toxoplasmose em humanos, é o hábito destes se alimentarem da carne de animais selvagens, dentre eles, a carne de tatu (DUBEY et al., 1998).

O hábito de comer carne crua ou mal cozida, torna a ingestão de bradizoítos uma importante via de transmissão tanto para o homem quanto para os animais carnívoros, desta forma, o carnivorismo é considerado uma das principais formas de transmissão do *T. gondii* na natureza, sendo responsável pelas altas taxas de infecção em todo o mundo (DUBEY, 2008).

Apesar deste hábito carnívoro não ser capaz de elucidar como se dá a transmissão no caso de vegetarianos e herbívoros, os oocistos desempenham um papel fundamental na infecção da toxoplasmose em animais e homens, visto que a disseminação dos oocistos pode ainda ocorrer pela água e pelo solo, sendo também

veiculados por vegetais crus e frutas. Existe ainda a possibilidade de aerossóis e partículas de poeira serem consideradas possível meio de propagação destes (EKMAN, 2012; KIJLSTRA & JONGERT, 2008). Com isso, passou-se a considerar reservatórios de água como possíveis portadores de oocistos de *T. gondii*, demonstrando que a contaminação hídrica também pode ser uma fonte de transmissão (JONES; DUBEY, 2010; DIAS et al., 2011).

Como vetores mecânicos na transmissão dos oocistos no ambiente, as moscas e baratas, também são importantes disseminadores, pois podem, eventualmente, carrear estas formas de desenvolvimento em suas patas, sendo a exposição a estes fatores um potencial risco a mulheres grávidas, as quais podem adquirir a forma aguda da infecção (AVELINO et al. 2003; KAWAZOE, 2005).

Este conhecimento sobre as diferentes fontes de infecção, as quais variam de população a população são capazes de fornecer as importantes informações que podem ser utilizadas como forma de intervenção contra a toxoplasmose pelos setores de Saúde Pública (MUÑOZ-ZANZI et al., 2010).

2.4 LEPTOSPIROSE

2.4.1 Etiologia

A leptospirose é uma antroponose causada pela bactéria espiroqueta de Gênero *Leptospira*, Família Leptospiraceae e Ordem Spirochaetales. Esta enfermidade pode acometer praticamente todos os animais domésticos e selvagens, entre os quais se destacam os carnívoros, roedores, primatas e marsupiais. Os hospedeiros primários podem ser animais domésticos ou selvagens, sendo o homem um hospedeiro acidental, ao infectar-se de forma direta através da urina de animais contaminados ou de forma indireta a partir de água, solo e raramente se constitui em transmissor da infecção (FAINE et al., 1999).

Todas estas espécies podem atuar como reservatórios e contribuir para a disseminação do agente na natureza. Ela pode afetar diferentes sistemas do organismo, destacando-se o reprodutivo, urinário e circulatório (ACHA & SZYFRES, 2003; HORSCH, 1999; LEVETT, 2001).

2.4.2 Aspectos genéticos

Diversas espécies do gênero *Leptospira* podem ser responsáveis por causar a leptospirose. De acordo com a classificação sorológica, sorovar é a unidade taxonômica básica (BRASIL, 2005). Os sorovares que compartilham semelhanças genéticas são então organizados em sorogrupos de leptospirosas as quais estão divididas em patogênicas e saprófitas de acordo com seu sorogrupo e sua patogenicidade (FAINE et al., 1999).

As primeiras são responsáveis pelas infecções nos homens e animais: *Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. fainii*, *L. weillii* e *L. santarosai*; estas estão divididas atualmente em 260 diferentes sorovares patogênicos da espécie *Leptospira spp*, as quais estão agrupadas em 23 sorogrupos distintos. O grupo das saprófitas de vida livre são: *L. biflexa*, *L. wolbachii*, *L. meyeri*, *Tunrneria parva* e *Leptonema illini*, possuindo 38 sorovares agrupados em seis sorogrupos, sendo encontradas em água doce. São raros os registros destas espécies em animais ou no homem, não sendo considerados, portanto, como causadores da doença (ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010; KMETY; DIKKEN, 1993; FAINE et al., 1982; ACHA; SZYFRES, 1986).

Os diferentes sorovares apresentam uma estreita relação com algumas espécies, sendo observados mais frequentemente naquelas consideradas como hospedeiros primários de manutenção. Por exemplo, o sorovar Copenhageni apresenta maior tropismo pelos ratos, o Hardjo por bovinos, o Canicola pelos cães, o Pomona por suínos e o Grippotyphosa pelos animais silvestres. Contudo, já existem diversos estudos mostrando a grande diversidade de animais que cada sorovar pode acometer (VASCONCELLOS, 2004).

2.4.3 Patogenia e transmissão

O patógeno pode ser transmitido através do contato da pele, ou mucosas, com água ou fômites contaminados pela urina ou por secreções genitais de animais infectados (LEFERBVE, 2003; RIET-CORREA et al., 2001).

As leptospirosas caem na circulação sanguínea, iniciando o processo de multiplicação em diversos órgãos, em destaque, o fígado, baço e rins. A leptospiremia pode durar entre quatro a cinco dias, atingindo no máximo, sete dias. Para evadir da resposta do hospedeiro o agente se deposita em locais onde a imunidade humoral é

ineficaz ou inexistente como câmara do globo ocular, luz dos túbulos renais, tratos genitais masculino e feminino e cérebro, levando ao quadro de leptospirúria, podendo ocorrer a formação de imunocomplexos e reações inflamatórias gerando uma vasculite generalizada (ADLER et al., 1981; VASCONCELLOS, 1987; FAINE et al., 1999). Ressalta-se que estes animais portadores do agente, passam a excretar a leptospira através da urina por períodos variados, sendo assim considerado portador convalescente (VASCONCELLOS, 2002).

Em animais domésticos e silvestres as leptospirosas patogênicas podem ser eliminadas através da urina, durante a fase crônica da doença, contaminando solos, rios, pântanos e outras coleções de água, atingindo indiretamente ou diretamente outros animais (FAINE et al., 1999; CORRÊA; CORRÊA, 1992). A excreção pode ser de longa duração e de forma intermitente, podendo variar de acordo com o hospedeiro afetado e o sorovar envolvido. Após eliminadas pela urina, as leptospirosas podem contaminar o solo, a água e os alimentos, podendo se manter vivas em torno de 7 dias, ou em situações mais favoráveis, como em água parada, lama e margens de riachos, elas podem viver de forma saprófita durante muito tempo (ENRIETTI, 2001).

As características inerentes ao agente infeccioso, à suscetibilidade dos hospedeiros, condições ambientais, concentração demográfica e a interação entre as populações de animais são fatores determinantes para a ocorrência e a transmissão da leptospirose (HERHOLZ et al, 2006).

2.4.4 Diagnóstico

A realização de um diagnóstico laboratorial é de fundamental importância para confirmação da leptospirose, pois esta enfermidade apresenta sinais clínicos inespecíficos (VIEIRA, 2008). É recomendado, ainda, que estes sejam associados a dados epidemiológicos e histórico do indivíduo.

Os testes preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) são os sorológicos, sendo a Reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM) o teste padrão de referência. Recomenda-se que o teste seja realizado com antígenos vivos, cuja densidade ideal de crescimento seja atingida em culturas de 4 a 14 dias (WHO, 1967) e que contenham diferentes sorovares que representem cada sorogrupo. As principais dificuldades encontradas para realização da cultura são a infraestrutura laboratorial e a

manutenção de repiques das culturas vivas, requerendo, ainda, mão-de-obra especializada (VASCONCELLOS, 1979).

A SAM é capaz de detectar tanto anticorpos da classe IgM quanto os da classe IgG, sendo contudo, sorogrupo-específica, ou seja, os anticorpos presentes no soro do animal são dirigidos contra um sorovar específico, não sendo possível especificar o sorovar responsável pela infecção. Para tanto, o resultado do teste considera a proporção de sororeativos para o total de animais examinados, indicando assim, o grau de infecção em determinada população. O provável sorovar infectante será aquele que aparece com maior titulação.

Contudo, sorovares de um mesmo sorogrupo podem apresentar reações cruzadas por compartilharem antígenos, sendo assim, o animal pode ser reagente a vários sorovares simultaneamente, apresentando títulos de mesma magnitude, dificultando a identificação do sorovar responsável pela doença (HAGIWARA, 2003).

Isto ocorre geralmente entre o sexto e o décimo dia de infecção apenas, não sendo observado a sua predominância após este período da infecção.

A identificação do sorovar só é possível através de técnicas de isolamento do agente, de absorção de aglutininas, de detecção de anticorpos monoclonais ou técnicas moleculares (HERRMANN et al., 1992). Além disso, outras interferências podem existir na interpretação da SAM, tais como, utilização de culturas antigas ou muito recentes as quais podem afetar a qualidade das suspensões dos antígenos, interferindo na titulação do teste e a ocorrência de infecções múltiplas no indivíduo avaliado (TURNER, 1970).

A confirmação diagnóstica pode ser obtida através do isolamento do agente em amostras de sangue, urina, fetos abortados e sêmen ou a partir de métodos moleculares como a Reação em cadeia pela Polimerase (PCR), a qual permite detectar uma mínima quantidade de DNA bacteriano com alta sensibilidade e especificidade e em curto espaço de tempo. Outras técnicas, como a Reação de Imunofluorescência direta ou indireta e Ensaio de Imunoperoxidase podem ser também empregadas, porém com menor sensibilidade e especificidade (TURNER, 1970; WHO, 2007).

O teste de PCR permite a detecção de mínima quantidade de DNA bacteriano em qualquer material biológico, com alta sensibilidade e especificidade e em curto espaço de tempo. Outras técnicas, como imunofluorescência direta ou indireta, imunoperoxidase podem ser também empregadas, porém com menor sensibilidade e especificidade (TURNER, 1970).

2.4.5 Leptospirose em animais silvestres

A ocorrência de leptospirose está estreitamente vinculada aos fatores ambientais, onde sua disseminação depende de, além de condições favoráveis, da presença de animais silvestres e sinantrópicos (ALVES et al., 1996). Os animais silvestres são, portanto, considerados como mantenedores de leptospirosas no ambiente (BOLIM, 1996; CORRÊA et al., 2004).

Estudos sobre a presença de leptospirose em animais silvestres e sinantrópicos já foram realizados em várias regiões do mundo. Tais estudos incluem roedores, edentados, carnívoros, artiodáctilos e primatas, os quais podem atuar como fonte de infecção e potenciais disseminadores de diferentes sorovares de *Leptospira spp.* (MCCAUGHEY; FAIRLEI, 1971; SANTA ROSA et al., 1975; AL SAAD; POST, 1976; CIRONE et al., 1978; CORDEIRO et al., 1981; EVERARD et al., 1983; MICHNA, 1970; REILLY et al., 1968; SÁ et al., 1999; SHIVE et al., 1969; SHIMIZU, 1984; RIM et al., 1993; HARTSKEERL; TERPSTRA, 1996). Contudo, os roedores e pequenos marsupiais são os reservatórios de maior importância, constituindo o grupo de portadores assintomáticos universal.

Animais silvestres podem desenvolver sinais similares aqueles apresentados pela fauna doméstica e por seres humanos, incluindo baixo índice de fertilidade, nascimentos de filhotes fracos, abortos e transtornos oculares (FAINE, 1982). Contudo, existem poucas informações sobre o potencial de animais silvestres como reservatório desta infecção (LINS; LOPES, 1984; VASCONCELLOS, 1987). No Brasil, os tatus tem sido alvo de pesquisas para leptospirose, e os resultados positivos para presença do agente nestes animais tem reforçado a importância da educação ambiental alertando para as consequências da caça ilegal e da manipulação destas espécies (BATISTA et al., 2005; SILVA et al., 2008). E, de acordo com Minette et al., (1966) quando mantidos em condições de cativeiro, os animais silvestres aumentam as chances de serem expostos a diferentes sorovares, podendo ser infectado por um sorovar incomum para aquela espécie.

Várias espécies de animais silvestres podem atuar como reservatórios de leptospirose, e ao se infectarem se tornam carreadores renais do patógeno, eliminando-os através da urina. Estes animais podem transmitir o agente diretamente através da

eliminação das leptospiros através da urina e contaminar água, solo e alimentos (SHARMA et al., 2003; BHARTI et al., 2003).

2.4.6 Leptospirose e saúde pública

Também conhecida por Síndrome de Weil, a leptospirose apresenta alta prevalência e distribuição mundial. Apesar dos diferentes sorovares de leptospira serem capazes de infectar, teoricamente, qualquer espécie animal, um determinado grupo de sorovares pode ser considerado endêmico para uma região específica. Nestes casos, as condições ambientais, climáticas e as espécies animais existentes é que irão determinar o sorovar prevalente naquela região (ALVES et al., 1996; GENOVEZ et al. 2006).

Com grande impacto social, econômico e sanitário, a leptospirose tem sido relatada em praticamente todos os países que realizaram investigação epidemiológica para esta enfermidade, sendo mais observada nos países tropicais. Na América do Sul, a leptospirose em humanos é um problema de saúde pública, devido a existência de setores com deficientes condições sanitárias, as quais estão diretamente relacionadas com a ampla população de roedores (FAINE, 1982). No Brasil, a doença é considerada endêmica e os riscos para a saúde pública se refletem através da sua alta incidência e percentual significativo de internações, acarretando perdas de dias de trabalho e alto custo hospitalar, mostrando, ainda, seu alto impacto social e econômico (BRASIL, 2005, 2014). Nas áreas urbanas e rurais do país, o clima tropical úmido e a vasta população de roedores favorecem a sua ocorrência. O crescimento desordenado da população urbana e o crescente acúmulo de lixo nestes setores contribuem ainda mais para proliferação dos murinos, com consequente aumento da incidência da leptospirose (KO et al., 1999; FIGUEIREDO et al., 2001).

De acordo com levantamentos epidemiológicos no país, a sua ocorrência também está relacionada com períodos de altos índices pluviométricos, deficiência no saneamento básico e condições topográficas, principalmente baixadas e várzeas alagadiças ou ainda aglomerados urbanos, os quais favorecem acúmulo de lixo contribuindo, desta forma, para a infestação por roedores (ACHA; SZYFRES, 1986; KO et al., 1999; LOMAR et al., 2002). Porém infecções acidentais podem ocorrer em clima seco em locais onde exista água represada com alta concentração de animais (PLANK; DEAN, 2000; SZYFRES, 1976). Nestas circunstâncias, e na presença dos hospedeiros adequados, as leptospiros podem persistir por semanas ou meses no

ambiente, principalmente nas regiões tropicais ou subtropicais (ACHA; SZYFRES, 1986; COSTA et al., 2001).

Dentre as espécies silvestres, os roedores e marsupiais representam os principais reservatórios em ecossistemas não atingidos pela ação humana. O rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) e as ratazanas (*Rattus rattus*) representam grande ameaça para a saúde pública, atuando como principais reservatórios de leptospira, uma vez que são os principais carreadores das cepas do sorogrupo Icterohaemorrhagiae, abrigando o microrganismo nos rins, podendo eliminá-lo através da urina durante semanas ou meses após a fase aguda contaminando água, solo e alimentos (STERLING; THIERMANN, 1981; FAINE, 1982). A relação hospedeiro-parasita nos roedores sinantrópicos revela uma condição de equilíbrio onde os animais afetados geralmente não expressam sinais da infecção, sendo considerados, portanto, portadores universais (GONÇALVES et al., 1981; VASCONCELLOS, 1987).

Bovinos, suínos, ovinos, caprinos, equinos e animais silvestres também são considerados reservatórios de leptospiros, contudo, em áreas urbanas, os cães são considerados os reservatórios mais importantes da leptospirose em humanos, pois apresentam estreita relação com o homem, podendo eliminar leptospiros ativas durante vários meses sem apresentar qualquer sinal clínico.

O potencial risco de transmissão da *Leptospira spp.* em humanos ocorre, principalmente, pelo hábito de comer a carne crua destes animais (DUBEY et al., 1998; KAWAZOE, 2000). Os principais fatores predisponentes de epidemias em seres humanos são as chuvas fortes, originando enchentes, favorecendo a transmissão das leptospiros através do contato indireto com água, solo, vegetação e alimentos contaminados pela urina dos animais infectados, sejam eles silvestres ou domésticos (TUNER, 1967; MYERS, 1985). Pessoas envolvidas diretamente com o serviços de saneamento ambiental também apresentam grandes chances de se contaminar por leptospiros, pois estão em contato direto com ambientes contaminados por urina de cães e roedores infectados.

2.5 LEISHMANIOSE VISCERAL

2.5.1 Etiologia

A leishmaniose visceral é uma enfermidade de ampla distribuição mundial que afeta homens e mamíferos, sendo causada pelos parasitas intracelulares do complexo

Leishmania donovani. O seu agente etiológico é um protozoário da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (PRADO et al., 2011; FEITOSA et al. 2000). As espécies responsáveis pela doença estão divididas em três gêneros: *Leishmania chagasi* responsável pela forma clínica da leishmaniose visceral na América Central e América do Sul; a *Leishmania donovani* causadora da doença na Ásia e na África; e a *Leishmania infantum* na Ásia, Europa e África (ALMEIDA et al., 2005; PRADO et al., 2011). Os parasitas são transmitidos através da picada de mosquitos vetores, sendo os flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* responsáveis pela transmissão do parasito nas Américas.

2.5.2 Aspectos genéticos

Os parasitas do complexo *Leishmania* têm sido divididos em 4 espécies, a *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi* e *L. archibaldi*.

Existem vários estudos apontando diferentes origens relacionadas a *L. chagasi*, as quais indicam que a LV na América possam ser causadas tanto pelo *L. chagasi*, quanto pelo *L. infantum*. Em 1999, alguns pesquisadores sugeriram que a *L. infantum* seria semelhante filogeneticamente da *L. chagasi* (MAURICIO et al., 1999), levando a apontar posteriormente que a *L. chagasi* teria sido introduzida na América durante a colonização (FERNÁNDEZ-COTRINA et al. 2012) e que as diferenças hoje apontadas entre estes parasitas poderiam ter ocorrido devido adaptações recentes em novas espécies de vetores (SHAW, 2006). Com base nas diferenças encontradas por Lainson & Rangel (2005) no kDNA (DNA do cinetoplasto) destes parasitos, foi definido que a *L. chagasi* deveria continuar sendo reconhecida como uma subespécie da *L. infantum*, baseado nas suas diferenças genotípicas e fenotípicas (LAINSON; RANGEL, 2005). Portanto, alguns autores consideram que estas são espécie diferentes, sendo então divididas em duas subespécies, a *L. infantum infantum* para o Velho Mundo e a *L. infantum chagasi* para o Novo Mundo.

Na América Central e em alguns países da América do Sul estudos apontam que espécies causadoras da leishmaniose cutânea também podem estar associadas à enfermidade visceral típica, inclusive em indivíduos não imunocomprometidos, sejam humanos ou animais. Estas espécies são *Leishmania mexicana*, *Leishmania tropica*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania columbensis* (DANTAS-TORRES, 2006).

A descoberta de híbridos é outra importante informação acerca da etiologia da doença. As espécies híbridas já identificadas foram a *L. infantum* (viscerotrópico) com a *Leishmania major* (dermotrópico) (VOLF et al., 2007), que possivelmente se formaram através de reprodução sexuada, durante o estágio em que o parasito encontra-se no inseto (AKOPYANTS et al., 2009). Até o momento, sabe-se que estes híbridos sobrevivem apenas em um vetor específico, o *Phlebotomus papatasi* (VOLF et al., 2007). Já foi identificado ainda casos onde *Leishmania tropica* (espécie causadora da forma tegumentar) também já foi identificada em caninos os quais apresentavam a forma visceral da doença (HAJJARAN et al., 2007).

2.5.3 Patogenia e Transmissão

A transmissão da leishmaniose envolve uma rede complexa de interações entre o parasita, os vetores, os hospedeiros vertebrados e os diferentes habitats envolvidos no ciclo (DANTAS-TORRES et al., 2012). O ciclo é considerado metaxênico (Figura 5), ou seja, neste o agente passa por diferentes etapas de transformação no organismo do vetor. Inicialmente, formas infectantes do parasito na forma promastigota metacíclico é inoculado no hospedeiro durante o repasto sanguíneo do mosquito vetor. Ao atingir a corrente sanguínea as formas promastigotas conseguem sobreviver à lise celular, a qual foi ativada via sistema complemento. Após evadir da resposta imune, o parasita passa a infectar os macrófagos na busca de aumentar sua sobrevivência. Contudo, apesar do pH ácido e das enzimas hidrolíticas presentes nos fagolisossomas dos macrófagos, o parasita consegue se multiplicar. Vale salientar que a transmissão pode ocorrer ainda por transfusões sanguíneas e até mesmo congênita (ainda pouco elucidada) (CAMPOS-PONCE et al., 2005; COUTINHO et al., 2005; MONTALVO et al., 2012; DANTAS-TORRES et al., 2006).

Uma vez infectado, o hospedeiro passa a ser portador, reservatório e fonte de infecção para o agente. O cão doméstico é apontado como principal hospedeiro doméstico. E assim como eles, os canídeos silvestres também estão suscetíveis a doença, podendo nestas espécies ser fatal. Por este motivo, DANTAS-TORRES et al., (2012) foram motivados a buscar por reservatórios alternativos na América do Sul, identificando quais outros animais poderiam ser potenciais fontes de infecção para leishmaniose. Eles relataram um caso onde um gato doméstico apresentava-se infectado com *L. (i.) chagasi*, e seu papel como hospedeiro foi determinado através de

xenodiagnóstico (DA SILVA et al., 2010), mostraram ainda que outros animais sinantrópicos podem estar envolvidos com a transmissão da doença.

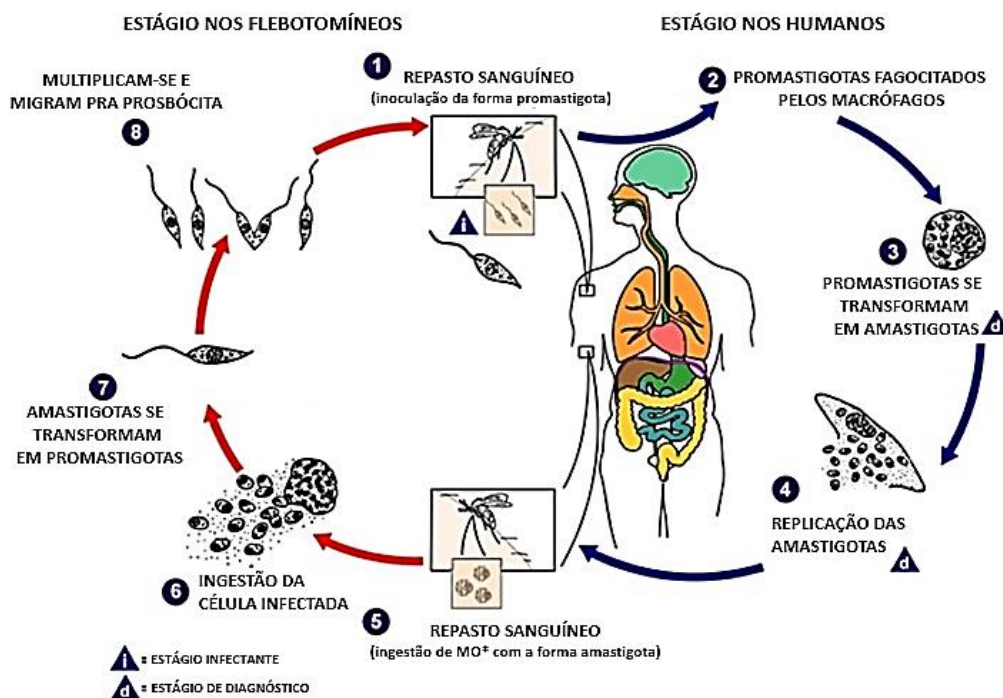


Figura 5- Ciclo biológico da leishmaniose. Adaptado do CDC - Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2015).

Os vetores da leishmaniose são insetos dípteros do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo (THRUSFIELD, 2004; DANTAS-TORRES, 2006). No Brasil, as espécies de vetores conhecidas são os *Lutzomyia longipalpis* e o *Lutzomyia cruzi*, ocorrendo principalmente na região central do país (DANTAS-TORRES, 2006).

Outros possíveis vetores estão sendo estudados na participação da transmissão da *Leishmania*, por exemplo, já foi comprovado que carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* apresentam capacidade de se infectarem com o agente (15,4% de taxa de infecção), bem como, macerados destes artrópodes foram capazes de reproduzir a doença em camundongos. Contudo, a participação deles ainda não foi comprovada na transmissão natural da leishmaniose (COUTINHO et al., 2005). Há ainda estudos sobre a possibilidade da saliva dos flebotomíneos ser capaz de influenciar o desenvolvimento do parasita após a inoculação no hospedeiro durante o repasto

sanguíneo, além de atuar como antígeno gerando uma resposta imunológica ativa contra a saliva do vetor (CAMPOS-PONCE et al., 2005).

2.5.4 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado através de testes diretos e indiretos, tais como: cultura, sorologia, citologia e técnicas moleculares. A técnica de esfregaço direto é de importante valor no diagnóstico clínico, contudo, requer bastante experiência do responsável pela execução, além de consumir muito tempo e apresentar alta especificidade e baixa sensibilidade, levando a possíveis resultados falso negativos (DAVIES et al., 2000; AZEVEDO et al., 2011; CALVOPINA et al. 2004; MOHAMMADIHA et al., 2012). No caso do exame parasitológico, não é indicado que seja utilizado como teste padrão ouro para leishmaniose, contudo este poderá ser aproveitada para cultivo em meio bifásico NNN (Novy, Mc, Neal, Nicolle). Assim como o parasitológico, a cultura demanda muito tempo e apresenta baixa sensibilidade (MOHAMMADIHA et al., 2012).

A sorologia é o diagnóstico mais utilizado pela sua fácil execução e boa sensibilidade, dentre eles destacam-se o Ensaio Imunoenzimático (ELISA), Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Teste de Aglutinação Direta (DAT) e o Western Blot (WB) (DA SILVA et al., 2010; MOHAMMADIHA et al., 2012; MONTALVO et al., 2012). Dentre eles, o DAT apresenta altos valores de sensibilidade (93%) e especificidade (100%), além de ser simples, econômico para estudos sorológicos e epidemiológicos de rotina (CORTES et al., 2012). Contudo, apesar das facilidades de execução, cuidados devem ser tomados quanto a possíveis reações cruzadas com diferentes espécies de *Leishmanias* e ainda com o *Trypanosoma cruzi* (MONTALVO et al., 2012).

Com relação as técnicas moleculares, o PCR (Reação em cadeia pela polimerase) tem sido bastante empregado em estudos com cães, seres humanos e flebotomíneos, podendo ainda ser associado ao DAT no diagnóstico de animais assintomáticos com *L. (i.) infantum* (MOHAMMADIHA et al., 2012).

No Brasil, o Programa de Vigilância e Controle da LVC adota como métodos sorológicos o ELISA para triagem e a RIFI (títulos de 1:40) como confirmatório, independente da presença de sinais clínicos nos cães. Contudo, de forma gradativa está sendo implementada a utilização do teste rápido de imunocromatografia para triagem

dos animais e o ELISA como teste confirmatório (BRASIL, 2011). Com relação à sensibilidade, a RIFI é considerada inferior ao ELISA (FRAGA et al., 2012).

A associação entre as técnicas associadas ao exame clínico e histórico do animal continuam sendo a forma mais confiável de diagnóstico, contudo na América do Sul ainda existe uma grande dificuldade em se realizar os testes em animais suspeitos, fato este que se dá pela proprietário não procurar assistência veterinária ou pela não disponibilidade dos testes de diagnóstico sensíveis (DANTAS-TORRES et al., 2012).

2.5.5 Leishmaniose e animais silvestres

Assim como animais domésticos, os animais silvestres podem atuar como reservatórios da leishmaniose (MOLINA et al., 2012). São considerados reservatórios todo hospedeiro no qual o agente infeccioso vive de forma natural e multiplica-se, atuando, portanto, como fonte de infecção. Tal agente deve ainda ser idêntico aquele capaz de infectar o ser humano (THRUSFIELD; 2004; DANTAS-TORRES; 2007).

Os canídeos, de forma geral, atendem todas as exigências para serem incriminados como eficientes reservatórios da leishmaniose e, devido ao um maior contato entre o homem e o cão doméstico, este animal torna-se o mais estudado acerca da doença (DANTAS-TORRES; 2006). Contudo, animais sintomáticos ou assintomáticos, selvagens ou domésticos, tem igual papel na transmissão da doença atuando como fonte de infecção para os flebotomíneos e consequentemente como reservatório de *Leishmanias* (MOHAMMADIHA et al., 2012). Além disso, os animais assintomáticos podem representar 50 a 60% do total de animais infectados sem, no entanto, desenvolver sinal clínico sugestivo, mesmo que apresentem altos índices de parasitismo (AZEVEDO et al., 2011).

A maioria dos estudos acerca da leishmaniose em animais silvestres tem sido voltado nos últimos anos a identificação de possíveis reservatórios, tendo sido observado que espécies mantidas em cativeiro podem ser acometidas e ainda desenvolver quadros clínicos graves ou fatais. No Brasil, onde a leishmaniose apresenta-se de forma endêmica, este fato já tem sido observado em um grande número de instituições (ESTEVES et al., 2005; GILROY et al., 2011). Neste contexto, o estudo das leishmanioses em animais selvagens atualmente apresenta importância tanto na saúde pública, como ainda em relação a conservação de espécies ameaçadas (FORNAZARI & LANGONI, 2014).

Diversos estudos já comprovam que a *L. infantum* pode ser encontrada em reservatórios silvestres, sugerindo sua importante participação no ciclo selvático da leishmaniose, mesmo na ausência do cão doméstico (MOLINA et al., 2012).

Dentre os reservatórios silvestres já relatados na Espanha temos o rato de telhado (*Rattus rattus*) e ratazana (*Rattus norvegicus*), o rato do campo (*Apodemus sylvaticus*), o rato-das-hortas (*Mus spretus*), a lebre-andina (*Lepus granatensis*), a gineta-européia (*Genete geneta*), o lince-ibérico (*Lynx pardinus*), a marta (*Martes martes*), a doninha-anã (*Mustela nivalis*), o texugo-europeu (*Meles meles*), o manguço (*Herpestes ichneumon*), os lobos (*Canis lupus*) e as raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*) (MOLINA et al., 2012). O gambá (*Didelphis marsupialis*) infectado na Colômbia e na Venezuela foi identificado também o rato de telhado (*Rattus rattus*) (DANTAS-TORRES, 2006). No Brasil, há relatos da existência de ciclo silvestre da leishmaniose envolvendo o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) a raposa do campo (*Pseudalopex vetulus*) e o gambá (*Didelphis albiventris*) (GOMES et al., 2007; AZEVEDO et al., 2011).

No Brasil, os tatus já foram incriminados como reservatório natural da *Leishmania Viannia naiffi*, causadora da forma tegumentar da doença (SHAW, 1999). No município de Afonso Cláudio, Espírito Santo, um estudo que visava aprofundar os conhecimentos sobre a epidemiologia da leishmaniose tegumentar, ocasionado pela *Leishmania brasiliensis*, detectou como prováveis reservatórios o *E. sexcinctus* (tatu-peba) e o *Agouti paca* (paca), os quais atraíam flebotomíneos antropofílicos. No estudo em questão, o cão e o próprio homem atuaram como fonte de infecção (FALQUETO, 1997).

As preferências sobre o habitat demonstradas pelos flebotomíneos influenciam o grau de contato que eles exercem sobre os humanos (DAVIES et al., 2000). Alguns trabalhos já apontam, por exemplo, os tatus como preferência alimentar de fêmeas do gênero *Lutzomyia* (SILVA, 2008; XIMENES et al., 1999). Embora não haja relatos na literatura que evidenciem o papel dos tatus-peba na transmissão das leishmanioses, a presença de abrigos desses animais em regiões peridomiciliares, em associação com cães, contribuiu para a agregação dos flebotomíneos, sendo, portanto, considerado como importante fator de risco na transmissão de *Leishmania spp.* (XIMENES et al., 1999).

2.5.6 Leishmaniose e saúde pública

Do ponto de vista clínico e epidemiológico, a Leishmaniose visceral está dividida em duas formas: a Leishmaniose Visceral Zoonótica (LVZ), a qual afeta os humanos, sendo as crianças as mais suscetíveis e aponta o cão doméstico como seu principal reservatório; e a Leishmaniose Visceral Antroponótica (LVA), onde os seres humanos são os únicos reservatórios e a transmissão se dá através da picada de mosquitos vetores.

Costa (2011) cita um estudo chinês onde, no mesmo país, coexistem as duas formas epidemiológicas da leishamiose, a forma antroponótica (LVA) causada pela *L. donovani* ao mesmo tempo em que se observa a forma zoonótica (LVZ) resultantes de parasitemia ocasionada por *L. infantum*, mostrando a complexidade de estabelecer um controle efetivo para esta doença, visto que estes agentes apresentam ciclos biológicos distintos. Para a Saúde Pública, ambas são importantes, porém a LVZ é ainda um importante problema para a Medicina Veterinária. Fraga et al. (2012) observaram ainda que, em alguns locais endêmicos para LV, ocorrem surtos periódicos da doença. Isso sugere que ocorre a manutenção do parasito nestas áreas, mesmo durante períodos em que aparentemente a doença está ausente.

Estima-se que ocorra cerca de 0,5 milhões de casos de leishmaniose visceral por ano no mundo, onde o maior número de casos é relatado na Índia, Nepal, Bangladesh, Sudão e Brasil. Acredita-se contudo, que este número esteja ainda subestimado (BERN et al. 2008; REITHINGER, 2008).

A distribuição da doença está diretamente relacionada a movimentos populacionais, disponibilidade de reservatórios, fatores socioeconômicos, distribuição do vetor e alterações ambientais ocasionadas pelo impacto humano (DANTAS-TORRES, 2006; COSTA, 2011). Estes fatores levam ao surgimento gradual de novos casos em regiões onde antes não havia relatos (SILVA et al., 2008). Um outro fator agravante para o aumento da incidência da doença é carência de dados epidemiológicos em áreas endêmicas, visto que os profissionais da saúde geralmente baseiam-se apenas nos sinais clínicos, não realizando levantamentos taxonômicos essenciais para vigilância epidemiológica (DAVIES et al., 2000).

Em estudo conduzido na Bahia, foi observado que mesmo nos anos em que a leishmaniose apresentou baixa taxa de incidência em humanos, ou durante épocas pouco favoráveis ao desenvolvimento dos flebotomíneos, o índice de infecção chegou a 17% (FRAGA et al., 2012).

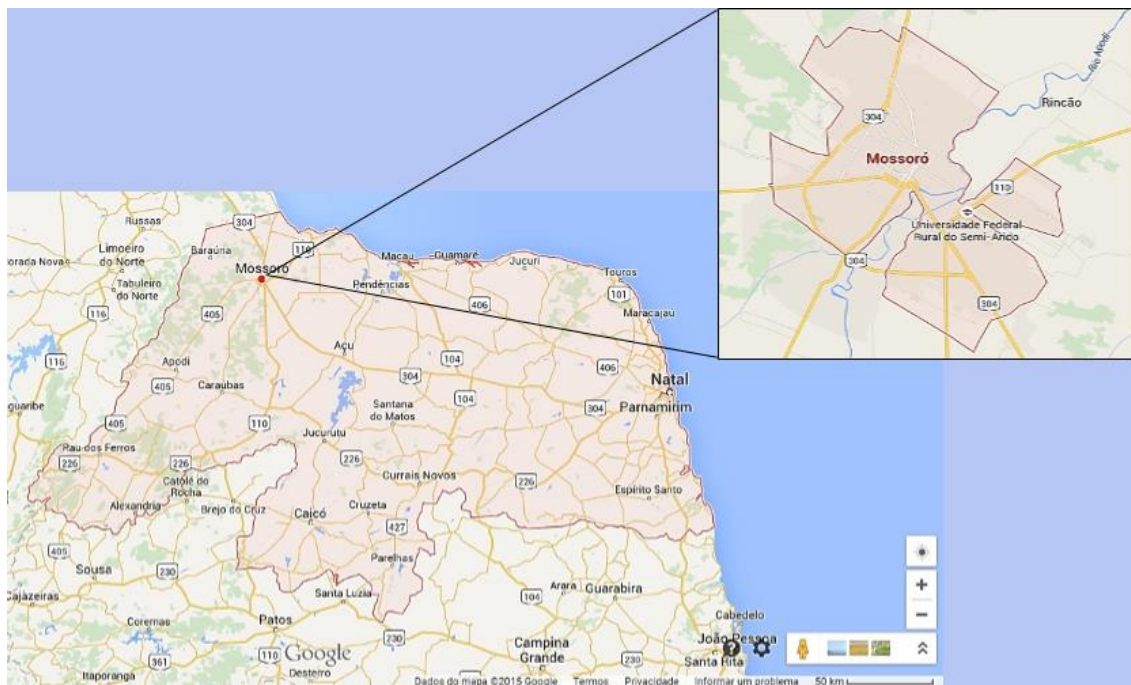
É responsabilidade das autoridades de saúde pública e dos médicos veterinários responsáveis pelos animais evitar a disseminação do agente causador da leishmaniose, afim de diminuir o estabelecimento da doença em novos reservatórios, bem como em novas áreas, respectivamente (DANTAS-TORRES et al., 2012).

Para se estabelecer medidas eficazes de controle se faz necessário, ainda, o conhecimento acerca ecologia do agente. Estes resultados possibilitam identificar os fatores de risco determinantes para a ocorrência da doença, os quais estão diretamente relacionados com: os vetores flebotomíneos, os hospedeiros reservatórios e ainda o comportamento humano, o qual influencia, por exemplo, no tipo de moradia adotada por eles (DAVIES et al., 2000). Contudo, a maior dificuldade encontrada tem sido a ecologia do vetor, tendo em vista que o controle das formas intermediárias dos flebotomíneos não podem ser aplicadas como nos mosquitos, os quais se desenvolvem apenas na água, tendo em vista que estes, tanto o ovo, como a larva e a pupa se desenvolvem em diversos tipos de solo.

Portanto, interromper a transmissão é a forma mais prática e menos onerosa de se combater o ciclo de infecção, visto que ações que atinjam apenas a população canina e não abranjam humanos e reservatórios silvestres, serão ineficientes para o controle da enfermidade (DANTAS-TORRES et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO



Fonte: Adaptado de Map Data ©Google

3.2 AMOSTRAS

Foram utilizados 33 tatus da espécie *Euphractus sexcinctus*, machos e fêmeas, jovens e adultos, de vida livre. Estes animais foram provenientes de capturas e apreensões realizadas pela Polícia Ambiental da Prefeitura Municipal de Mossoró-RN, e pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e foram transportados até o Laboratório de Estudos em Imunologia e Animais Silvestres (LEIAS) na Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), no município de Mossoró/RN, onde foram realizadas as coletas de material biológico.

Os animais foram mantidos no LEIAS sob condições favoráveis a sua manutenção, sendo-lhes fornecido água e ração e vontade em ambiente com ventilação natural.

O presente estudo foi aprovado pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), sob licença de número 42879-1, e código de autenticação 88152585.

3.3 COLETA DO SANGUE

Todos os animais foram submetidos a uma medicação pré-anestésica utilizando cloridrato de cetamina (Cetamin a 10%[®], 10mg/kg) associada a cloridrato de xilazina (Xilazin a 2%[®], 1mg/kg). Para o cálculo correto da dosagem dos medicamentos, os animais foram pesados em balança digital.

O estresse ao qual estes animais foram submetidos foi minimizado pela utilização de colchão térmico durante todo o procedimento além de garantirmos uma maior assepsia do ambiente. O sangue foi coletado através da veia femoral (Figura 3), utilizando seringas de 3ml e 1 gota de EDTA para cada ml coletado. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 1200xg por 15 minutos, sendo o soro separado do sangue total em tubos de Eppendorf[®] e estocados a -20°C até a realização dos testes sorológicos.



Figura 6: Coleta de sangue via veia femoral em tatu-peba (*E. sexcinctus*). Arquivo pessoal

3.4 SOROLOGIA

Os testes sorológicos foram realizados no Núcleo de Pesquisas em Zoonoses (NUPEZO), do Departamento de Higiene e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita” (UNESP), Campus de Botucatu, SP, sob supervisão do Dr. Hélio Langoni, Professor Titular da Disciplina de Zoonoses e Saúde Pública.

A pesquisa sorológica foi realizada para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp., anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leishmania infantum*.

3.4.1 Soroaglutinação Microscópica (SAM) para leptospirose

Para a detecção de anticorpos contra *Leptospira spp.* foi utilizada a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), de acordo com as normas do Ministério da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1995).

Como antígenos, foram utilizados 25 sorovares e quatro sorovariantes do sorovar Hardjo, os quais foram mantidos vivos e repicados semanalmente em meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) (DIFCO Laboratories[®], Detroit, USA), a 28°C. Os sorovares utilizados foram: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Djasiman, Sentot, Gryppotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc e Hardjo (H. prajitno, H. miniswajezak, H. C.T.G. e H. bovis).

Diluição dos soros:

Inicialmente, cada amostra de soro foi diluída em solução salina com tampão fosfato (PBS) com pH 7,6 na diluição 1:50, adicionando-se 100 µL do soro a 4,9 mL da solução em tubos de ensaio. Com auxílio de micropipeta, todas as amostras foram transferidas para uma microplaca de poliestireno de fundo chato. Posteriormente, 50 µL de cada antígeno foi adicionado às amostras de soro. Como controle negativo foi utilizado o PBS de pH 7,6. As microplacas foram agitadas e incubadas por 1 hora em estufa seca a 28°C. Após a incubação, com auxílio de alça bacteriológica, foi transferida uma gota de cada poço para uma lâmina lisa de vidro para posterior leitura em microscópio ótico de campo escuro (Carl Zeiss[®], Alemanha), com lente ocular 10 (100x).

Leitura dos resultados:

O grau de avaliação das aglutinações foi medido de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde e Ministério da Saúde, Brasil (Brasil, 1995), sendo portanto, consideradas positivas amostras que apresentaram 50% ou mais de leptospiros aglutinadas. As amostras consideradas positivas foram novamente submetidas a análise com o objetivo de determinar qual o título de anticorpos para cada sorovar reagente. Para isso, 100µL das amostras já diluídas a 1:50 foram transferidas para uma nova microplaca de fundo chato, sendo então adicionados 50 µL de PBS de pH 7,6 em outros cinco poços dispostos horizontalmente ao lado da amostra, obtendo-se, desta forma, diluições 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600. A diluição foi realizada na razão de dois

onde 50µL foram transferidos do primeiro poço para o segundo, homogeneizando e novamente transferido 50µL para um terceiro e assim por diante até que os cinco poços estivessem preenchidos.

Por fim, foi adicionado a cada poço 50µL do sorovar considerado positivo na diluição de 1:100. O título final foi considerado de acordo com a maior diluição apresentada para cada sorovar.

3.4.2 Teste de Aglutinação Modificado (MAT) para toxoplasmose

O teste de aglutinação modificado (MAT) foi utilizado para análise de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* de acordo com Desmonts e Remington (1980). Os soros controle positivo e negativo foram gentilmente cedidos pelo Departamento de Diagnóstico de Zoonoses, da Faculdade de Medicina Veterinária e Ciência Animal, UNESP, Botucatu.

Diluição dos soros:

O soro dos animais foi diluído em solução salina de tampão fosfato (PBS), com pH 7,2 e 0,01M contendo 0,05% de tripsina e incubado em banho-maria sob 37°C sob agitação contínua. Porções são examinadas microscopicamente a cada 5 minutos para rompimento das células. Assim que as células se rompem, a suspensão de parasitas é centrifugada por 10 minutos a 600xg, o sobrenadante é descartado e os parasitas são resuspendidos em PBS e novamente centrifugados.

Após a segunda centrifugação, os parasitas são suspensos em formalina a qual foi previamente diluída em 1:5 de PBS (6% solução de formaldeído). Os parasitas se mantêm na formalina *overnight*. No dia seguinte (no mínimo 16 horas após suspensão na formalina), eles são centrifugados e resuspensos em PBS. O sedimento é lavado em PBS três vezes para remover tantos os debris celulares quanto o formaldeído. Os parasitas são então suspensos em tampão alcalino (pH 8,7), contendo 7,02g de NaCl, 3,09g de H₃BO₃, 24ml de 1 N NaOH, 4g de albumina plasmática bovina (fração V) e água destilada suficiente para que a solução atinja o volume final de 1 litro. A suspensão é mantida a 4°C (sem congelar).

O teste é realizado em placas de microtítulo com poços em forma de U. São distribuídos em cada poço 50µl de 2ME de 0,2M (14ml/l) diluídos em PBS. Duas diluições pareadas de cada soro são realizadas, iniciando por 1:20. Posteriormente 50µl

de antígeno é distribuído em cada poço. As placas são agitadas para permitir completa mistura do conteúdo dos poços e sua incubação é feita a 32°C *overnight*.

Leitura dos resultados:

A formação de um botão depositado no fundo do poço da placa foi interpretada como negativa enquanto a completa aglutinação do material formando dentro do poço foi considerado uma amostra positiva.

3.4.3 Teste de aglutinação direta (DAT) para leishmaniose

O teste de aglutinação direta (DAT) foi realizado de acordo com o descrito por Harith et al. (1986), havendo apenas algumas modificações.

Como antígeno foram utilizadas formas promastigotas de *Leishmania infantum* na fase estacionária. O antígeno foi submetido a centrifugação a 4.000xg durante 15 minutos, sob temperatura de 4°C, posteriormente foram realizadas cinco centrifugações a 3.200xg durante 10 minutos (4°C), e lavagem do *pellet* por adição de 200 volumes iguais de Solução de Locke (SL) (NaCl 4,5g; KCl 0,21g; CaCl 0,12g; NaHCO₃ 0,1g; Glicose 0,5g, água deionizada estéril 500 mL), sendo mantido incubado nesta solução por 45 minutos a 37°C, contendo ainda, tripsina, a 0,4%. Após esta etapa, foram realizadas cinco lavagens a 3.200xg, conforme citado anteriormente, estando a suspensão do *pellet* na concentração de 2×10^8 promastigotas/mL e adição do mesmo volume de formaldeído a 2% (peso/volume) em SL, realizando-se a incubação a 4°C *overnight*. Após o *pellet* estar fixado, foi realizada mais duas lavagens, com solução fisiológica (SF) gelada onde o *pellet* foi suspenso em uma concentração de 1×10^8 promastigotas/mL em SF contendo 0,02% do corante *Coomassie Brilliant Blue* (Sigma-Aldrich®), sob leve agitação durante 90 minutos. Posteriormente, foram realizadas duas lavagens com SF, com ajuste final da concentração para 1×10^8 promastigotas/mL em SF contendo 1% de formaldeído. O antígeno líquido obtido foi estocado a 4°C em frasco âmbar até sua utilização.

Diluição dos soros:

Os soros foram inicialmente diluídos em microplaca de fundo chato em proporções de 1:20 a 1:40.960 em solução diluente, contendo SF, 0,7% de 2ME e 1% de Soro Fetal Bovino (Cultilab®), sendo depois transferidos 50µl de cada diluição para microplacas com cavidades em fundo V, sendo incubadas por 1 hora a 37°C. A seguir,

foram adicionados 50µl da suspensão de antígeno líquido, mantendo ainda em temperatura ambiente e *overnight*.

Como controle negativo foi utilizado apenas solução diluente e como controle positivo utilizou-se soros positivos e negativos de cães previamente testados em laboratório credenciado a partir de técnicas oficiais para leishmaniose visceral recomendados pelos Ministério da Saúde.

Leitura dos resultados:

Para leitura dos resultados, considerou-se amostra positiva aquela em que não houve formação de um botão de coloração azul no fundo do poço e a partir de 1:320 (ponto de corte adotado) (HARITH et al., 1989).

3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram expressos em frequência simples e porcentagem através do programa estatístico SPSS 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences). A associação das doenças com as variáveis sexo e idade foi analisada através do teste exato de Fisher com intervalos de confiança de 95% e nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 33 animais submetidos às análises sorológicas, 2/33 (6,06%) foram positivos para *Leptospira spp.*. Um deles reagiu para o sorovar Canicola (200) e outro para o sorovar Andamana (200). Resultados similares foram obtidos por Batista et al. (2005), em pesquisa conduzida na mesma região do presente estudo, onde 14/64 (21,54%) *Euphractus sexcinctus* mantidos em cativeiro na zona rural apresentaram anticorpos anti-*Leptospira spp.*, e os sorovares encontrados foram Pomona (50%), Patoc (41,67%) e Panama (8,33%), com títulos que variaram entre 100 e 200. Estes resultados demonstram a exposição dos tatus-peba às leptospiros na cidade de Mossoró e regiões circunvizinhas, indicando seu potencial como reservatório deste agente, apontando, ainda, a grande diversidade de cepas circulantes. Assim como em nosso estudo, os sorovares observados por Silva et al., (2005) sugerem uma menor probabilidade destes animais terem contraído a infecção através de roedores, visto que estes apresentam geralmente o sorovar Icterohaemorrhagiae (BHARTI et al 2003). Anticorpos anti-*Leptospira spp.* foram também detectados em tatus de vida livre do Estado de São Paulo (SILVA et al. 2008), observando que 1/3 (33,33%) dos *E. sexcinctus* reagiu para o sorovar Hardjo, com título de 50, e 3/31 (9,68%) dos *D. novemcinctus*, também para leptospirose, reagiram contra os sorovares Autumnalis (200), Grippotyphosa (50) e Patoc (100). Este último é comumente observado em seres humanos, representando, assim, um potencial risco a saúde pública (QUINN et al. 2005).

O sorovar Andamana relatado em nosso estudo foi também encontrado em 8/94 diferentes espécies de primatas neotropicais no Estado do Pará (COSTA, 2010), todos apresentando titulação 100. Andrade (2007) também encontrou em primatas o sorovar Andamana, sendo este o de maior frequência em seu estudo. A leptospirose em primatas está se tornando cada vez mais importante, tendo em vista que estes animais podem atuar como reservatórios e portadores renais do agente, colocando em risco humanos que manipulam estas espécies, como funcionários de zoológicos trabalhadores, laboratoristas e médicos veterinários, além de outros primatas ou diferentes animais que compartilham seu habitat (SCARCELLI et al., 2003).

Esteves et al. (2005) também encontrou o sorovar Andamana em 25% (1/16) de tartarugas gigantes *Geochelone spp.* e em 66,6% (2/3) de jaguatiricas *Leopardus*

pardalis. Este sorovar foi relatado, ainda, em animais domésticos como cães (ÁVILA et al., 1998) e bovinos (CAMPOS JR. Et al., 2006).

O sorovar Canicola é conhecido por sua ocorrência em caninos (VEIGAS et al, 2001; SANTA ROSA et al., 1975; ADLER; DE LA PEÑA, 2009; ÁVILA et al. 1998), contudo já foi citado em animais silvestres como o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), a onça-parda (*Puma concolor*) e em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sendo, neste estudo, o sorovar Canicola o mais prevalente (47,05%) dentre os observados (ESTEVES et al., 2005).

Os sorovares Andamana, Autumnalis e Grippytyphosa também têm sido relatados em animais silvestres (VASCONCELLOS, 2004; ESTEVES et al., 2005; RODRIGUES et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013). O potencial zoonótico dos tatus na leptospirose foi confirmado desde 1964, quando o sorovar Autumnalis foi isolado pela primeira vez em nestas espécies no Brasil (ROTH, 1964), nele 3% dos animais foram reativos para este sorovar, com títulos iguais a 200. Lins e Lopes (1984) também encontraram anticorpos para os sorovares Hebdomalis, Grippytyphosa e Cynopteri em 3/57 (5.26%) em espécimes de *Dasypus novemcinctus* no Estado do Pará, demonstrando a grande variedade de sorotipos possíveis de se observar em tatus de diferentes regiões do Brasil.

Os tatus de vida livre, principalmente aqueles encontrados em áreas rurais, são destinados, geralmente, a alimentação e artesanato, sugerindo a possibilidade destes animais silvestres participarem na epidemiologia da leptospirose para o homem.

O percentual de reatividade para *Leptospira spp.* em nosso estudo pode ser considerado relativamente baixo, visto que estes animais apresentam hábitos fossoriais, utilizando-se de tocas como abrigos, aumentando, assim, o seu contato com outras fontes de infecção como, por exemplo, os roedores, como indica Baulu et al. (1987). Caso os animais tenham sido acometidos pela infecção após serem instalados em cativeiro, as possíveis fontes de infecção podem ter sido a água, contato com roedores sinantrópicos ou demais animais presentes nos arredores do cativeiro (COSTA, 2010).

Os animais silvestres parecem estar propensos a desenvolver a leptospirose, tendo em vista o contato direto com urina de animais infectados, água, solo ou alimentos contaminados. Este fato reforça que a educação ambiental deve ser levada mais a sério, bem como as consequências da caça ilegal, manipulação inadequada de animais silvestres ou ingestão de sua carne (SILVA et al., 2008).

Não foram observadas diferenças significativas na associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti-*Leptospira spp.* ($P>0.05$), contudo, apenas machos foram reativos ao teste (Tabelas 1). Uma maior soropositividade para *Leptospira spp.* relacionada aos machos foi também documentada por Baulu et al. (1987) e Andrade (2007), em estudos realizados com primatas neotropicais, contudo estes resultados podem estar relacionado ao fato de que a quantidade de amostras avaliadas pertencentes ao sexo masculino foi superior às amostras de primatas do sexo feminino, em ambos os estudos, não podendo revelar uma associação da positividade com o sexo. Estes resultados diferem do observado em nosso estudo onde o número de fêmeas analisadas foi maior que o número de machos e nenhuma delas apresentou reatividade ao agente. A maior positividade nos machos em nosso estudo pode estar relacionada a fatores intrínsecos do gênero masculino nestas espécies, tais como o hábito de, durante o período reprodutivo, percorrer grandes distâncias ou se misturar com outros animais ou grupos de animais (ANDRADE, 2007).

Tabela 1. Associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti-*Leptospira spp.* em tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*)

Variável	Leptospirose		OR (IC95%) ^c	P ^d
	SAM ^a (%)	N ^b		
Sexo				
Fêmea	0 (0,0)	16	-	0,485
Macho	02 (100)	15		
Idade				
Adulto	01 (50,0)	19	1	1,0
Jovem	01 (50,0)	12	1,58 (0,08 – 28,42)	

^a SAM = Número de animais positivos para o teste de soroaglutinação microscópica (título = 200), ^b N = Número de animais negativos, ^c OR (IC95%) = *Odds ratio* (Intervalo de confiança a 95%); ^dP= valor de $P = 5\%$

Para a pesquisa de toxoplasmose, 2/33 (6,06%) das amostras apresentaram anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, todas com título igual a 400. Resultados similares foram obtidos em estudos conduzidos no estado de São Paulo, onde Silva et al. (2006) detectaram a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em 1/9 (11,11%) dos tatus

da espécie *Dasyus novemcinctus*, com título de 256, e em 2/3 (66,6%) dos *Euphractus sexcinctus*, ambos apresentando titulação igual a 512. Ainda no mesmo estado, Silva et al. (2008) observaram que 4/31 (12,9%) dos *Dasyus novemcinctus* foram positivos para *T. gondii*. Visto que o *E. sexcinctus* apresenta hábitos alimentares generalistas, ele possui, portanto, maior probabilidade de se contaminar através da ingestão de oocistos.

Ainda corroborando com nossos resultados, Burrridge et al., (1979) em estudo conduzido na Flórida, observaram que 12/63 (19%) dos tatus *Dasyus novemcinctus* foram positivos para anticorpos contra *Toxoplasma gondii* a partir do teste de hemaglutinação indireta (HAI). No mesmo estudo, anticorpos contra *T. gondii* foram também detectados em um lince-pardo (*Linx rufus*), os quais se alimentam principalmente de roedores, tatus e gambás. O fato de felídeos selvagens serem reconhecidos como real fonte de infecção e transmissão da toxoplasmose, reforça a importância dos cuidados com estes animais silvestres (SILVA et al., 2008). Estes resultados apontam a importância do carnivorismo para a manutenção do agente entre os animais silvestres.

Um outro estudo mostrou que 15 felídeos, dentre eles, predadores de tatus, tais como *Felis pardalis* (jagatiricas), *Panthera onca* (jaguas) e *P. concolor* (pumas) disseminavam oocistos de *T. gondii* através das fezes (hospedeiros definitivos) após infecção natural (SILVA, 2007). De acordo com Wang (2002), as jagatiricas (*F. pardalis*) alimentam-se de tatus e outros mamíferos terrestres, indicando um provável ciclo de vida selvagem do *T. gondii*.

Pode ainda existir uma conexão entre o ciclo doméstico e selvagem de *T. gondii*, principalmente devido uma adaptação de muitos hospedeiros intermediários selvagens para o ambiente urbano. Animais como tatus, gambás e roedores são geralmente encontrados em perímetros residenciais, e eles podem se tornar infectados ingerindo oocistos dos felinos. Por outro lado, gatos domésticos podem se tornar infectados quando predam animais sinantrópicos (FRENKEL; DUBEY, 1972; BURRIDGE et al., 1979).

Estes estudos nos ajudam a elucidar como os animais selvagens podem contrair a toxoplasmose mesmo na ausência de felídeos domésticos, visto que os tatus em vida livre, além de outras formas de se contaminar com oocistos, estarão expostos ao contato com felídeos selvagens os quais podem atuar como hospedeiros definitivos da toxoplasmose.

Apesar de existirem poucas informações divulgadas acerca da infecção de *T. gondii* em tatus, bem como dos demais Xenarthras, no Brasil e na América do Sul, o hábito de compartilhar tocas e procurar por alimento no solo podem ser algumas das razões para considerar que a infecção nestes animais ocorra a partir da contaminação por oocistos (VITALIANO et al., 2014).

Diferenças significativas não foram observadas acerca do sexo e idade destes animais para o *Toxoplasma gondii* ($P > 0.05$), contudo, apenas os tatus-peba fêmeas e jovens foram positivos para toxoplasmose 2/2 (100%) (Tabela 2). Resultados similares foram obtidos em estudo realizado em primatas neotropicais da espécie *Cebus apella nigrinus* de vida livre conduzido por Silva et al., (2008), onde nenhuma diferença significativa foi observada acerca do sexo e da idade. Variáveis como a alimentação desses animais, sua fonte de água ou predatismo de roedores poderiam ser consideradas relevantes para a associação, contudo, o levantamento destes dados não foi realizado (GARCIA et al., 2005).

Tabela 2. Associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*)

Variável	Toxoplasmose		OR (IC95%) ^c	P ^d
	MAT ^a (%)	N ^b		
Sexo				
Fêmea	02 (100,0)	14	-	0,227
Macho	0 (0,0)	17		
Idade				
Adulto	0 (0,0)	20	-	0,148
Jovem	02 (100,0)	11		

^a MAT = Número de animais positivos para o teste de aglutinação modificado (título = 400), ^b N = Número de animais negativos, ^c OR (IC95%) = *Odds ratio* (Intervalo de confiança a 95%); ^dP= valor de P = 5%

Assim como os tatus, os quatis e os marsupiais, os primatas são considerados sentinelas para a ocorrência de toxoplasmose (ACHA & SZYFRES, 2003), uma vez que tem acesso a ambientes urbanos ou mesmo domésticos e alimentam-se de frutas e vegetais que podem estar contaminados com oocistos, ampliando o risco da infecção em

humanos para áreas rurais, urbanas e silvestres. Portanto, a ingestão de formas infectantes através de carne mal passada, bem como da manipulação de carcaças de animais selvagens podem ser considerados como potencial fonte de infecção (BÓIA et al., 2008). Não há estudos determinando a importância dos animais selvagens na transmissão do *T. gondii* para o homem. Porém, a alta soroprevalência em algumas espécies apreciadas por caçadores indicam que seu consumo pode representar uma via de transmissão (SILVA, 2006).

Em relação a leishmaniose, 3/33 (9,09%) animais foram reagentes para o antígeno de *Leishmania infantum*, e apresentaram títulos de 320 (3/33; 9,1%). Nosso estudo foi o primeiro a relatar a ocorrência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* em *Euphractus sexcinctus*. O DAT é utilizado como teste confirmatório para leishmaniose visceral quando títulos altos são detectados (VEEKEN et al., 2003), contudo, mais da metade dos tatus examinados (17/33; 51,5%) apresentaram algum nível de anticorpo detectável ao DAT, entre 20 e 160, o que pode indicar contato com o parasita ou infecção recente. Não se pode descartar, porém, a possibilidade de reação cruzada, especialmente com parasitas do gênero *Trypanosoma*, intimamente relacionado a *Leishmania* (MEREDITH et al., 1995). Até hoje, a *L. naiffi* têm sido relatadas em tatus da espécie *D. novemcinctus*, sendo esta última isolada em sangue, baço e fígado (LAINSON; SHAW 1989, NAIFF et al. 1991). É importante observar que, assim como preguiças e tamanduás, os tatus são caçados e sua carne é utilizada para alimentação na América do Sul. Outro fato relevante é que, em muitos casos, os filhotes dos animais mortos são levados pra casa dos seus caçadores e ficam sob seus cuidados até a vida adulta (ROQUE; JANSEN 2014). É possível que, associado à presença de vetores flebotomíneos, haja participação destes animais como fonte de infecção no ambiente peridomiciliar e em seu habitat natural.

Apesar do cão doméstico ser considerado o principal hospedeiro vertebrado e o principal reservatório para forma visceral da doença sem seres humanos, a leishmaniose visceral tem sido relatada em várias espécies de mamíferos, como carnívoros, primatas, lagomorfos, morcegos, roedores e cavalos (BECK et al., 2008; LUPPI et al., 2008; MALTA et al., 2010; SANTIAGO et al., 2007; ARAÚJO et al., 2013; MOLINA et al., 2012; LIMA et al., 2008; PAPADOGIANNAKIS et al., 2010; ROLÃO et al., 2005), e ainda nos edentados, como relatado em nosso estudo, indicando a suscetibilidade destes animais a infecção por *L. infantum*, sugerindo, portanto, que estes animais possam atuar como sentinelas da infecção, principalmente pela grande exposição a que estão sujeitos

caçadores ou qualquer pessoa que venha a manipular ou se alimentar destes animais. Muitos estudos têm demonstrado a presença de *L. infantum* em animais selvagens e sinantrópicos, contudo, a importância destas espécies como potenciais reservatórios para a manutenção da doença ainda deve ser determinado (SOUZA et al., 2014).

Não foram observados valores significativos entre a associação dos dados epidemiológicos e a soropositividade para anti-*Leishmania infantum* em nosso estudo ($P > 0.05$), contudo, mesmo sendo mais elevado o número de animais adultos analisados, apenas os animais jovens apresentaram os anticorpos contra leishmaniose (Tabela 3).

Tabela 3. Associação entre dados epidemiológicos e soropositividade para anticorpos anti-*Leishmania infantum* em tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*)

Variável	Leishmaniose		OR (IC95%) ^c	<i>P</i> ^d
	DAT ^a (%)	N ^b		
Sexo				
Fêmea	02 (66,7)	14	2,28 (0,18 – 27,99)	0,601
Macho	01 (33,3)	16	1	
Idade				
Adulto	0 (0,0)	20	-	0,052
Jovem	03 (100,0)	10		

^a DAT = Número de animais positivos para o teste de aglutinação direta (título = 320),

^b N = Número de animais negativos, ^c OR (IC95%) = *Odds ratio* (Intervalo de confiança a 95%); ^dP= valor de $P = 5\%$

Todos os animais utilizados no estudo apresentavam-se clinicamente saudáveis. Portanto, os anticorpos presentes podem ser resultado de uma exposição antiga aos agentes onde a infecção foi debelada antes mesmo que pudesse dar início a um quadro clínico sintomático. Desta forma, mesmo clinicamente saudáveis, animais silvestres tornam-se potenciais transmissores de zoonoses, fazendo necessário o seu monitoramento desde sua chegada ao cativeiro (NUNES, 2007).

Diversos estudos baseados em inquéritos sorológicos já foram realizados tanto no Brasil como no exterior, sendo relatada a infecção por *Leptospira spp.* em várias espécies de animais selvagens (SILVA et al., 2008; THOISY et al., 2003; LILENBAUM et al., 2005). Os sinais clínicos mais comuns, tanto no homem como nos animais, são febre, dores musculares, icterícia, hemorragias generalizadas, pneumonia e insuficiência renal (BHARTI et al., 2006), sendo os distúrbios reprodutivos mais

associados aos animais, tais como o abortamento, nascimentos prematuros, natimortos, e infertilidade. Contudo, apesar da grande exposição a que os animais de vida livre e cativeiro estão à *Leptospira spp.*, pouco se sabe sobre sua importância como fontes de infecção, estando a maioria dos estudos voltados aos roedores sinantrópicos (FORNAZARI & LANGONI, 2014).

No que diz respeito a toxoplasmose, tanto nos animais como no homem a forma assintomática da infecção é extremamente comum ocorrendo na maioria dos casos, onde a manifestação de sinais clínicos se dá, geralmente, quando há o comprometimento do sistema imune (TENTER, 2000). Mamíferos selvagens apresentam sinais clínicos semelhantes aos que ocorrem nos animais domésticos e estão relacionados principalmente às alterações neurológicas, respiratórias e oculares (WOLFE, 2003).

Os sinais clínicos da leishmaniose visceral em animais selvagens são semelhantes aqueles apresentados pelos animais domésticos, especialmente os membros da família *Canidae*. Raramente se observam sinais clínicos em animais de vida livre, e, quando presentes, são de pouca gravidade. Nestes casos, pode acontecer duas situações, os animais de vida livre raramente adoecerem na natureza, ou a mortalidade destes não permitir que a infecção seja observada. O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), cachorro-vinagre (*Spheotos venaticus*), e raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) estão entre as espécies selvagens mais descritas na literatura acometidas por leishmaniose (FIGUEIREDO et al., 2008; SOUZA et al., 2010).

A doença em mamíferos selvagens se desenvolve de forma semelhante aos domésticos, sendo os principais achados de necropsia a emaciação, palidez de mucosas, aumento do fígado e despigmentação, esplenomegalia e linfadenopatia. Alterações menos específicas podem ainda ser encontradas, tais como, congestão pulmonar e edema, focos hemorrágicos na pele, pulmão coração e intestino (BECK et al., 2008; LUPPI et al., 2008; MALTA et al., 2010). Alterações físicas como as crostas na pele, ulcera e alopecia pode ser observada no caso dos canídeos selvagens (BECK et al., 2008; LUPPI et al., 2008; SOUZA et al., 2010). Luppi et al., 2008 relata um canídeo adulto mantido em cativeiro que apresentou sinais como emaciação, vômito, diarreia, anemia, azotemia, poliúria, polidipsia e morte apesar do tratamento. Achados histopatológicos foram compatíveis para a LV sendo ainda confirmada pela imunohistoquímica e PCR.

Animais assintomáticos mantidos em cativeiro podem representar um risco para outros animais suscetíveis e animais sinantrópicos no ambiente, bem como pra

visitantes e funcionários do zoológico, por exemplo, sendo extremamente necessárias medidas de controle nestas situações (JUSI et al., 2011). O ambiente no qual são instalados se torna, portanto, determinante para a instalação de prováveis enfermidades, principalmente devido, na maioria dos casos, os animais sofrerem um período de adaptação onde passam por situações de estresse, contribuindo direta ou indiretamente no seu estado imunológico. Com estes animais é necessário um controle profilático rigoroso visando minimizar o impacto que novos microrganismos novos ou pré-existentes possam causar nestes indivíduos. A ocorrência de doenças torna-se crucial a fim de se estabelecer o sucesso ou fracasso em programas de manutenção de espécies silvestres mantidas em cativeiro. Portanto, a qualidade da água e a higiene do ambiente podem fazer uma enorme diferença no controle das zoonoses em plantéis (NUNES, 2007; NUNES, et al.,2010).

Desta forma, independente da via de transmissão pela qual os animais se infectam, o risco ambiental deve ser considerado, fazendo-se necessária a realização de exames parasitológicos e sorológicos em todos os animais mantidos em cativeiro e/ou submetidos a qualquer tipo de manejo bem como o monitoramento de animais que sejam reintroduzidos ou translocados, uma vez que animais silvestres podem agir como sentinelas da emergência e/ou reemergência de doenças infecciosas (COSTA, 2010).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta foi a primeira evidência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* em *Euphractus sexcinctus* de vida livre. A presença de anticorpos contra leptospirose, toxoplasmose e leishmaniose relatadas neste estudo aponta, ainda, uma real exposição dos tatus-peba a estas doenças.

A relevância desses dados está relacionada, principalmente, à saúde pública, visto que tais zoonoses requerem medidas de prevenção e controle, a fim de evitar a infecção em humanos.

Estes resultados nos permite concluir que o homem deve assumir uma postura de maior atenção antes de consumir carne de tatu mal crua ou mal cozida, bem como, aumentar os cuidados durante seu manejo em casos onde estes animais são mantidos em cativeiro, tendo em vista, a real possibilidade destes animais serem portadores de agentes com potencial zoonótico.

REFERENCIAS

- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonoses y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2 ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 1986. 1-12p.
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. 175-185p.
- ADLER, B.; FAINE, S.; GORDON, L.M. The enzyme immunosorbent assay (ELISA) as a serological test for detecting antibodies against *Leptospira interrogans* serovar hardjo in sheep. **Vet. J.**, v. 57, p. 414–417, 1981.
- ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Vet. Microbiol.**, v. 140, p. 287-296, 2009.
- AFSSA. **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments**, 2005. Disponível em <<http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/35217-3528.pdf>>. Acesso em 13/04/2015.
- AJZENBERG, D.; CARME, B.; DEMAR, M.; BOUKHARI, R.; DARDÉ, M-L. La Toxoplasmose “Guyanaise” [French Guiana toxoplasmosis]. **Reveu Francophone des Laboratoires**, v. 396, p. 51-60, 2007.
- AL SAAD, M.; POST, G. Rodent leptospirosis in Colorado. **J. Wildl. Diseases.**, v. 12, p. 315-21, 1976.
- ALMEIDA, M.A.O.; JESUS, E.E.V.; SOUSA-ATTA, M.L.B.; ALVES, L.C.; BERNE, M.E.A.; ATTA, A.M. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in Northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **Vet. Parasitolol.**, v. 127, p. 227-232, 2005.
- ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MORAIS, Z.M. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do estado da Paraíba, Brasil. **Arqs Inst. Biológico**, v. 63, n. 2, p. 11-18, 1996.
- ALVES, R.R.N.; GONÇALVES, M.B.R.; VIEIRA, W.L.S. Caça, uso e conservação de vertebrados no semiárido brasileiro. **Trop. Conservat. Science**, v.5, n.3, p. 394-416, 2012.
- AMATO-NETO V., MEDEIROS E.A.S., LEVI G.C.; DUARTE M.I.S. **Toxoplasmose**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 154p.
- ANACLETO, T. C. S., DINIZ, J. A. F.; VITAL. M. V. C. **Estimating potential geographic ranges of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae) in Brazil under niche-based models**. *Mammalia*, v. 70, p. 202-213, 2006.
- ANDRADE, T.M. **Títulos de anticorpos contra *Leptospira spp.* e análise bioquímica no soro sanguíneo de Macaco Prego (*Cebus apella nigrilus*)**. São Paulo-SP. 2007.

62f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo-RN, 2007.

ANTUNES, J.M.A.P.; ZANINI, M.S.; DEMONER, L.C.; DEPS, P.D. Diagnóstico de *Mycobacterium leprae* em tatus (*Dasypus novemcinctus*) e sua correlação com a proximidade das fontes de água no distrito de Rive, Espírito Santo-Brasil. **Vet. e Zootec.**, v.16, n.4, p. 642-649, 2009.

ANTUNES J.M.A.P.; PEREIRA F.E.L.; DEMONER L.C.; MARTINS I.V.F.; ZANINI M.S.; DEPS P.D. *Sarcocystis* spp. in nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) from Brazil. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v. 110, p. 119-120, 2012.

ARAMINI, J. J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island Cougars (*Felis concolor vancouverensis*): Serology and oocyst shedding. **Int. J. Parasitol.**, v. 84, n. 2, p. 438-440, 1998.

ARAÚJO, A.; REINHARD, K.; FERREIRA, L.F.; PUCU, E.; CHIEFFI, P.P. Paleoparasitology: the origin of human parasites. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 71, p. 722–726, 2013.

AVELINO, M.M.; CAMPOS JR, D.; DO CARMO DE PARADA, J.C.B.; DE CASTRO, A.M. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. **Europ. J. Obstet. Gynecol. Reproduct. Biolog.**, v. 108, p. 19–24, 2003.

AVILA, M.O.; FURTADO, L.R.I.; TEIXEIRA, M.M.; ROSADO, R.I.L.; MARTINS, L.F.S.; BROD, C.S. Aglutininas anti-leptospíricas em cães na área de influência do Centro de Controle de Zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995. **Ciênc. Rur., Santa Maria**, v. 28, n. 1, p. 107–110, 1998.

AZEVEDO, E. M. R.; DUARTE, S. C.; COSTA, H. X.; ALVES, C. E. F.; SILVEIRA NETO, O. J.; JAYME, V. S.; LINHARES, G. F. C. Estudo da leishmaniose visceral canina no município de Goiânia, Goiás, Brasil. **Rev. Patol. Trop.**, Goiânia, v. 40, n. 2, p. 159-168, 2011.

BAULU, J.; EVERARD, C.O.R.; EVERARD, J.D. Leptospire in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops Sabaeus*) on Barbados. **J. Wildl. Dis.**, v. 23, p. 60-66, 1987.

BECK, A.; BECK, R.; KUSAK, J.; GUDAN, A.; MARTINKOVIC, F.; ARTUKOVIC, B.; HOHSTETER, M.; HUBER, D.; MARINCULIC, A.; GRABAREVIC, Z. A case of visceral leishmaniosis in a gray wolf (*Canis lupus*) from Croatia. **J. Wildl. Dis.**, v. 44, p. 451-456, 2008.

BERN, C.; MAGUIRE, J.H.; ALVAR, J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. **PLoS Neglect. Trop. Dis.**, v. 2, n. 10, p. e313, 2008.

BERTOZZI, L.C.; SUZUKI, L.A.; ROSSI, C.L. Serological diagnosis of toxoplasmosis: usefulness of IgA detection and IgG avidity determination in a patient with a persistent IgM antibody response to *Toxoplasma gondii*. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 41, n.3, p.175-177, 1999.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICARDI, J.N.; MATTHIAS, M.A.; DIAZ, M.M.; LOVETT, M.A.; GILMAN, R.H.; WILLIG, M.R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet.**, v. 3, p. 757-71, 2003.

BIÑAS, M.; JOHNSON, A.M. A polymorphism in a DNA polymerase α -gene intron differentiates between murine virulent and avirulent strains of *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Parasitol.**, v.28, n.7, p.1033-1040, 1998.

BÓIA, M.N.; CARVALHO-COSTA, F.A.; SODRÉ, F.C.; PINTO, G.M.T.; AMENDOEIRA, M.R.R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among indian people living in Iauareté, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 50, n. 1, p. 17-20, 2008.

BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)**, v. 11, p. 166-171, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde. **Manual de Leptospirose**. Brasília, 1995. 98p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de Vigilância Epidemiológica: Leptospirose**. Brasília, 2005. p. 502-520.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Subcoordenação de Zoonoses Vetoriais e Raiva. **Nota técnica: Esclarecimentos sobre o diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde**. Brasília, 2011.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Leptospirose: diagnóstico e manejo clínico**. Brasília, 2014. 44p.

BURRIDGE, M.J.; BIGLER, W.J.; FORRESLI, D.J.; HENNMANN, J.M. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. **JAVMA**, v. 175, n. 9, p. 964-967, 1979.

CADEMARTORI, B.G. **Toxoplasmose: perfil sorológico em gestantes atendidas em Postos de Saúde do Município de Pelotas - RS**. 2007. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2007.

CALVOPINA, M.; ARMIJOS, R. X; HASHIGUCHI, Y. Epidemiology of leishmaniasis in Ecuador: current status of knowledge - A review. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 7, p. 663-672, 2004.

CAMARGO, M. E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, A.W., ÁVILA, S.L.M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 165-74.

CAMPOS JÚNIOR, A. C. P.; FRENEAU, G. E.; JULIANO, R. S.; ACYPRESTE, C. S.; DIAS FILHO, F. C.; MARTINS, M. E. Prevalência de anticorpos anti-leptospira em machos bovinos na microrregião de Goiânia. **Ciênc. Anim. Brasil.**, v. 7, n. 4, p. 439-446, 2006.

CAMPOS-PONCE, M.; PONCE, C.; PONCE, E.; MAINGON, R.D.C. *Leishmania chagasi/infantum*: further investigations on Leishmania tropism in atypical cutaneous and visceral leishmaniasis foci in Central America. **Experim. Parasitol.**, New York, v. 109, p. 209–219, 2005.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; ARAÚJO, F.A.P.; GENNARI, S.M. *Toxoplasma gondii* in small neotropical wild felids. **Brazil. J. Vet. Res. Anim. Scienc.**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 50-67, 2013.

CARME, B.; AZNAR, C.; MOTARD, A.; DEMAR, M.; DE THOISY, B. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in non carnivorous free-ranging Neotropical mammals in French Guiana. **Vec. Born. Zoon. Dis.**, v. 2, n. 1, p. 11-17, 2002

CARTÉS, J. L. **Patrones de Uso de los Mamíferos del Paraguay: Importancia Sociocultural y Económica in Biodiversidad del Paraguay: Una Aproximación a sus Realidades**. Fundación Moises Bertoni, Asunción, 2007. p.167-186.

CDC, 2015. **Epidemiology & Risk Factors**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/epi.html#rare>. Acesso em 24.06.2015.

CIRONE, S.M.; RIEMANN, H.P.; RUPANER, R.; BEHIMER, D.E.; FRANTI, C.E. Evaluation of the hemagglutination test for epidemiologic studies of leptospiral antibodies in wild mammals. **J. Wildl. Dis.**, Kansas, v. 14, n. 2, p. 193-202, 1978.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

CORDEIRO, F.; SULZER, C.R.; RAMOS, A.A. *Leptospira interrogans* in several wildlife species in Southeast Brazil. **Pesq. Vet. Brasil.**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 19-29, 1981.

CORRÊA, S.H.R.; PASSOS, E.C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, 2001. p. 493-499.

CORRÊA, S.H.R.; VASCONCELLOS, S.A.; M.; TEIXEIRA, A.A.; DIAS, R.A.; GUIMARÃES, M.A.B.V.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Brazil. **J. Vet. Res. Anim. Scienc.**, v. 41, n. 3, p. 189-193, 2004.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Leptospiroses. In:____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. cap. 21, p. 219-231.

CORTES, S.; VAZ, Y.; NEVES, R.; MAIA, C.; CARDOSO, L.; CAMPINO, L. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 189, n. 2-4, p. 189-196, 2012.

COSTA, C.H.N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Rev. Soc. Brasil. Medic.Tropic.**, Uberaba, v. 44, n. 2, p. 232-242, 2011.

COSTA, E.; COSTA, Y.A.; LOPES, A.A.; SACRAMENTO, E.; BINA, J.C. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 34, n. 3, 2001.

COSTA, F. **Estudos ecológicos sobre reservatórios urbanos de leptospirose em Salvador**. 2010. 114f. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa)—Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador. 2010.

COSTA, T. O.; FERNANDES, W. O. B. ; COSTA, C. L. C. ; MAIA, R. M. ; VIANA, A. R. S. ; Freitas, C. I. A. . Aspectos reprodutivos em fêmeas de tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) mantidas em cativeiro. In: VII CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2014, Mossoró-RN. Anais... Mossoró-RN, v.8, Supl. 2, 2014, p.27.

COUTINHO, M. T.; BUENO, L. L.; STERZIK, A.; FUJIWARA, R. T.; BOTELHO, J. R.; MARIA, M.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 128, p. 149–155, 2005.

DA SILVA, S.M.; RABELO, P.F.B.; GONTIJO, N.F.; RIBEIRO, R.R.; MELO, M.N.; RIBEIRO, V.M.; MICHALICK, M.S.M. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 174, n. 1-2, p. 150-154, 2010.

DANTAS-TORRES, F. Situação atual da epidemiologia da leishmaniose visceral em Pernambuco. **Rev. Saúd. Públ.**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 537-541, 2006.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 149, p. 139-146, 2007.

DANTAS-TORRES, F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BANETH, G.; RIBEIRO, V. M.; CAVALCANTI, M. P.; OTRANTO, D. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. **Trend. Parasitol.**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 531-538, 2012.

DAVIES, C. R.; REITHINGER, R.; CAMPBELL-LENDRUM, D.; FELICIANGELI, D.; BORGES, R.; RODRIGUEZ, N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. **Cad. Saúd. Públ.**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 4, p. 925– 950, 2000.

DEEM, S. L.; FIORELLO, C. V. Capture and immobilization of free-ranging edentates. In: Heard, D. Zoological restraint and anesthesia. **International Veterinary Information Service**, Ithaca, N.Y, 2002. Documento B0135.1202.

DEPS, P. D., ANTUNES, J. M. A. P.; TOMIMORI-YAMASHITA, J. Detection of *Mycobacterium leprae* infection in wild nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) using the rapid ML Flow test. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n. 1, p. 86-87, 2007.

DEPS, P.D.; ALVES, B.L.; GRIPP, C.G.; ARAGAO, R.L.; GUEDES, B.; FILHO, J.B.; ANDREATTA, M.K.; MARCARI, R.S.; PRATES, I.; RODRIGUES, L.C. Contact with

armadillos increases the risk of leprosy in Brazil: a case control study. **Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.**, v. 74, p. 338-342, 2008.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **J. Clin. Microbiol.**, v. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.

DIAS, R.C.F.; LOPES-MORI, F.M.R.; MITSUKA-BREGANO, R.; DIAS, R.A.F.; TOKANO, D.V.; REICHE, E.M.V.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T. Factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in pregnant women attended in Basic Health Units in the city of Rolândia, Paraná, Brazil. **Rev. Instit. Med. Trop. de São Paulo**, São Paulo, v. 53, n. 4, 2011.

DORNY, P.; FRANSEN, J. Toxoplasmosis in a Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). **Veterinary Record.**, v. 125, n. 26-27, p. 647-647, 1989.

DOTTA, G.; VERDADE, L.M. 2011. Medium to large-sized mammals in agricultural landscapes of south-eastern Brazil. **Mammalia**, v. 75, p. 345-352, 2011.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **J. Protozool.**, v. 19, n. 1, p. 155-177, 1972.

DUBEY, J.P. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Vet. Parasitol.**, v. 3, p.199-211, 1983.

_____. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. **J. Parasitol.**, v. 82, p. 957–960, 1996.

_____. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **Internat. J. Parasitol.**, v. 28, n. 7, p. 1019-1024, 1998.

_____. The history of *Toxoplasma gondii* the first 100 years. **J. Eukar. Microbiol.**, Lawrence, v. 55, n. 6, p. 467–475, 2008.

_____. **Toxoplasmoses of Animals and Humans**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 338p.

DUBEY, J.P.; LAGO, E.G.; GENNARI, S.M., SU, C., JONES, J.L. Review Article. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitol.**, Cambridge, v. 139, n. 11, p. 1375–1424, 2012.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the Neotropics – The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil: **The Univ. Chic. Press**, v. 3, p. 609, 1999.

EKMAN, C.C.J. **Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana: revisão sistemática de surtos epidêmicos**. 2012. 198f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

EMMONS, L.H.; FEER, F. **Mamíferos de los Bosques Húmedos de América Tropical**. Editorial FAN, Santa Cruz, 1999. 298p.

ENRIETTI, M.A. Contribuição ao Conhecimento da Incidência de Leptospiras em Murídeos, Caninos e Suínos no Paraná. Brazil.Archiv. Biolog. Technol., v. jubilee, p.311-342, 2001.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E.A. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. **Int. J. Parasitol.**, v.28, p.1459-1466, 1998.

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. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 283-288, 2005.

EVERARD, C.O.R.; FRASER-CHANPONG, G.M.; BHAGWANDIN, L.J.; RACE, M.W.; JAMES, A.C. Leptospirosis in wildlife from Trinidad and Grenada. **J. Wildl. Dis.**, Kansas, v. 19, n. 3, p. 192-9, 1983.

FAINE S. **Guidelines for Control of Leptospirosis**. Geneva: W.H.O, 1982. 171p.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P.L. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272p.

FALQUETO, A. Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Estado do Espírito Santo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 30, p. 531-532, 1997.

FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; PERRI, S.H.V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clín. Vet.**, v. 5, n. 28, p. 36-44, 2000.

FERNANDES, W.O.B.; COSTA, T.O.; MENDONÇA, S.S; GOMES, S.L.; COELHO, T.G.; FREITAS, C.I.A. Condutas de diferentes categorias comportamentais em *Euphractus sexcinctus* (tatu peba) em cativeiro associadas ao período reprodutivo. In: VII CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2014, Mossoró-RN. Anais... Mossoró-RN, Acta Veterinária Brasília, v.8, Supl. 2, 2014, p.39.

FERNANDEZ-COTRINA, J.; INIESTA, V.; BELINCHON-LORENZO, S.; MUNOZMADRID, R.; SERRANO, F.; PAREJO, J.C.; GÓMEZ-GORDO, L.; SOTO, M.; ALONSO, C.; GÓMEZ-NIETO, L.C. Experimental model for reproduction of canine visceral leishmaniosis by *Leishmania infantum*. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 18, n. 192(1-3), p. 118-28, 2013.

FIALHO, C.G.; TEIXEIRA, M.C.; ARAUJO, F.A.P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Act. Scient. Veterin.**, Porto Alegre, v.37, n. 1, p.1-23, 2009.

FIGUEIREDO, F.B.; GREMIÃO, I.D.; PEREIRA, S.A.; FEDULO, L.P.; MENEZES, R.C.; BALTHAZAR, D.A.; SCHUBACH, T.M.; MADEIRA, M.F. First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in Brazil. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 102, p. 200–201, 2008.

FONSECA, G. A. B; AGUIAR, J. M. The 2004 Edentate Species Assessment Workshop. Edentata, v. 6, p.1-26, 2004.

FORNAZARI, F.; LANGONI, H. Principais zoonoses em mamíferos selvagens. **Vet. Zootec**, v. 21, p. 10-24, 2014.

FRAGA, D.B.; SOLCA, M.S.; SILVA, V.M.; BORJA, L.S.; NASCIMENTOD, E.G.; OLIVEIRA, G.G.S.; PONTES-DE-CARVALHO, L.C.; VERAS, P.S.T.; DOS SANTOS, W.L.C. Temporal distribution of positive results of tests for detecting *Leishmania infection* in stray dogs of an endemic area of visceral leishmaniasis in the Brazilian tropics: A 13 years survey and association with human disease. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 190, p. 591-594, 2012.

FREITAS, C.I.A.; COSTA, T.O.; COELHO, T.G.; FREITAS, M.O.; BARBOSA, W.O., LIMA, T.S.; FREITAS, C.E.O. Critérios de escolha e estratégias sexuais em tatu peba (*Euphractus sexcinctus* L., 1758). In: XXXII Encontro Anual de Etologia & V Simpósio Latino Americano de Etologia, 2014, Mossoró-RN. Anais... Mossoró-RN, 2014, p.78.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P. Serologic and its prevention in cats and man. **J. Infect. Dis.**, v. 126, p. 664–673, 1972.

FROTA C.C., LIMA L.N.C., ROCHA A.S., SUFFYS P.N., ROLIM B.N., RODRIGUES L.C., BARRETO M.L., KENDALL C. & KERR L.R.S. *Mycobacterium leprae* in six-banded (*Euphractus sexcinctus*) and nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in Northeast Brazil. **Mem. Inst. Osw. Cruz.**, v. 107, p. 209-213, 2012.

GARCIA J.L., SVOBODA W.K., CHRYSSAFIDIS A.L., MALANSKI L.S., SHIOZAWA M.M., AGUIAR L.M., TEIXEIRA G.M., LUDWIG G., SILVA L.R., HILST C. & NAVARRO I.T. Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus spp.*, *Alouatta caraya*) at the Paraná river basin, Paraná State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 133, p. 307-311, 2005.

GARDNER, A. L. Order Cingulata. In: WILSON, D. E.; REEDER, D.M. (eds.). **Mammal species of the world: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3. ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, p.94-97, 2005.

_____. Magnorder Xenarthra. In: GARDNER, A. L. (ed.). **Mammals of South America**. The University of Chicago Press, Chicago. p. 127-176, 2007.

GENOVEZ, M.E.; DEL FAVA, C.; CASTRO, V.; GOTTI, T.B.; DIB, C.C.; POZZI, R.C.; ARCARO, J.R.P.; MIYASHIRO, C.; NASSAR, A.F.C.; CIRRILO, S.L. Leptospirosis outbreak in dairy cattle due to *Leptospira spp.* serovar Canicola: reproductive rates and serological profile after treatment with streptomycin sulfate. **Arq. Inst. Biológ. São Paulo**, v. 73, n. 4, p. 389-393, 2006.

GILROY, C.; OLENYIK, T.; ROBERTS, S.C.; ULLMAN, B. Spermidine Synthase Is Required for Virulence of *Leishmania donovani*. **Infect. Immun.**, v. 79, n. 7, p. 2764–2769, 2011.

GOMES, R.B.; MENDONÇA, I.L.; SILVA, V.C.; RUAS, J.; SILVA, M.B.; CRUZ, M. S.; BARRAL, A.; COSTA, C.H.N. Antibodies against *Lutzomyia longipalpis* saliva in the fox *Cerdocyon thous* and the sylvatic cycle of *Leishmania chagasi*. **Transact. Roy. Societ. Trop. Medic. Hyg.**, Londres, v. 101, p. 127-33, 2007.

GONÇALVES DE ANDRADE, F. A.; FERNANDES, M. E. B.; BARROS M.C. A range extension for the yellow armadillo, *Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758 (Xenarthra, Dasypodidae), in the eastern Brazilian Amazon. **Edentata**, v. 7, p. 25-30, 2006.

GONÇALVES, A.J.R.; LAZERA, M.S.; PINTO, A.M.M.; MELO, J.C.P.; TEIXEIRA, C.R.V.; COSTA, I.C.; ANDRADE, J.; SANTOS, A.R.; VERAS, F.M.F.; DUARTE, I. Leptospiroses – revisão de 90 pacientes internados no Hospital Estadual São Sebastião (Rio de Janeiro) no período de janeiro/76 a dezembro/77. **Folh. Médic. (Br)**, v. 82, p. 93-102, 1981.

HAGIWARA, M.K. Leptospirose canina. Boletim Técnico. **Pfizer Saúde Animal**, 2003. p. 1-6.

HAJJARAN, H.; MOHEBALI, M.; ZAREI, Z.; EDRISSIAN, G. H. *Leishmania tropica*: Another Etiological Agent of Canine Visceral leishmaniasis in Iran. **Iran. J. Pub. Heal.**, Tehran, v. 36, n. 1, p. 85–88, 2007.

HALL, S.M. Congenital toxoplasmosis: regular review. **Br. Med. J.**, v. 305, n. 6848, p. 291-7, 1992.

HARITH, A.E.; KOLK, A.H.J.; KAGER, P.A.; LEEUWENBURG, J.; MUIGAI, R.; KIUGU, S.; LAARMAN, J.J. A simple and economic direct agglutination test for serodiagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 80, p. 583-587, 1986.

HARITH, A.E.; SLAPPENDEL, R.J.; REITOR, I.; KNAPEN, F.; KORTE, P.H.; UIGEN, E.; KOLK, A.H.J. Application of a direct agglutination test for detection of specific anti-Leishmania antibodies in the canine reservoir. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, p. 2252-2257, 1989.

HERHOLZ, C.; JEMMI, T.; STARK, K.; GRIOT, C. Patterns of animal diseases and their control. **Riv. Trime-strale San. Pubblic. Vet.**, v.42, n.4, p.295-303, 2006.

HERRMANN, J.L.; BELLENGER, E.; PEROLAT, P.; BARANTON, G.; SAINT GIRON, I. Pulsed-field gel electrophoresis of Not I digests of leptospiral DNA: a new rapid method of serovar identification. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 1696-1702, 1992.

HIDASI, H.W.; KAWANAMI, A.E. ; BARNABÉ, A. C. S. ; CARVALHO, A. M. ; MIRANDA, L.B. Resistência a antimicrobianos de bactérias oriundas de lavados traqueobrônquicos de jabutis (*Chelonoidis spp.*). In: XIII Congresso e XIX Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens 2010. Campos do Jordão. Anais do XII Congresso ABRAVAS, 2010.

HORSCH, F. Leptospirose, In: Beer, J. **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos**. São Paulo: Roca. 1999. p. 305-326.

HUBALEK Z. Emerging human infectious diseases: anthroponoses, zoonoses, and sapronoses. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, p. 403–404, 2003.

JONES, J.L.; DUBEY, J.P. Waterborne toxoplasmosis--recent developments. **Exp Parasitol.**, v. 124, n. 1, p. 10-25, 2010.

JUSI, M.M.; STARKE-BUZETTI, W.A.; OLIVEIRA, T.M.; TENÓRIO, M.; SOUSA, A.S.L.; MACHADO, E.O.R.Z. Molecular and serological detection of *Leishmania spp.* in captive wild animals from Ilha Solteira, SP, Brazil. **Rev.Bras. Parasitol. Vet.**, v. 20, p. 219–222, 2011.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 163-172.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves, D.P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 147-156.

KIJLSTRA, A.; JONGERT, E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. **Int. J. Parasitol.**, v. 38, p. 1359-1370, 2008.

KMETY, E.; DIKKEN, H. **Classification of the species *Leptospira interrogans* and history of its serovars**. Groningen, The Netherlands: University Press. 1993.

KO, A.I.; REIS, M.G.; RIBEIRO DOURADO, C.M.; JOHNSON JUNIOR, W.D.; RILEY, L.W.; SALVADOR LEPTOSPIROSIS STUDY GROUP. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brasil. **The Lancet**, v. 354, p. 820-825, 1999.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **J. Brasil. Patol. Méd. Laborat.**, v.41, n.4, p. 229-235, 2005.

LAINSON, R.; RANGEL, E.F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. *Leishmania (Viannia) naiffi sp. n.*, a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* in Amazonian Brazil. **Ann. Parasitol. Hum. Comp.**, v. 64, n. 1, p. 3-9, 1989.

LEFEBVRE, R.B. Leptospiras. In: DWIGHT, C.H.; ZEE, C.Z. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 2003. p. 174-177.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 1996. 415p.

LILENBAUM, R.C.; HERNDON, J.E.; LIST, M.; DESCH, C.; WATSON, D.M.; MILLER, A.A.; GRAZIANO, S.L.; PERRY, M.C.; SAVILLE, W.; CHAHINIAN, P.; WEEKS, J.C.; HOLLAND, J.C.; GREEN, M.R. Single-agent versus combination chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a CALGB randomized trial of efficacy, quality of life, and cost-effectiveness. **J. Clin. Oncol.**, v. 23, p. 190–196, 2005.

LIMA, E.M.D.; MUNIZ, I.D.C.M.; OHANA, J.A.B.; DE SOUSA, J.; JÚNIOR S. Ocorrência de *Euphractus sexcinctus* (Xenarthra, Dasypodidae) na região do Médio Rio Amazonas. **Edentata**, v. 8, n. 58-60, 2009.

LIMA, H.; RODRÍGUEZ, N.; BARRIOS, M.A.; AVILA, A.; CANIZALES, I.; GUTIÉRREZ, S. Isolation and molecular identification of *Leishmania chagasi* from a

bat (*Carollia perspicillata*) in northeastern Venezuela. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, v. 103, p. 412–414, 2008.

LINS, Z.C.; LOPES, M.L. Isolation of *Leptospira* from wild forest animals in Amazonian Brazil. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 78, n. 124-126, 1984.

LOMAR, A.V.; VERONESI, R.; BRITO, T.; DIAMENT, D. Leptospiroses. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 1007-1023.

LOPES, F.M.R.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; GONÇALVES, D.D.; FREIRE, R.L.; KARIGYO, C. J. T.; WEDY, G. F.; MATSUO, T.; REICHE, E.M.V.; MORIMOTO, H.K.; CAPOBIANGO, J.D.; INOUE, I.T.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Factors associated with seropositivity for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women of Londrina, Paraná, Brazil. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, v. 104 n. 23 p. 78-82, 2009.

LUKEŠOVÁ, D.; LITERÁK, I. Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic. **Vet. Parasitol.**, v. 74, n. 1, p. 1-7, 1998.

LUPPI, M.M.; MALTA, M.C.; SILVA, T.M.; SILVA, F.L.; MOTTA, R.O.; MIRANDA, I.; ECCO, R.; SANTOS, R.L. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 155, p. 146–151, 2008.

MALTA, M.C.; TINOCO, H.P.; XAVIER, M.N.; VIEIRA, A.L.; COSTA, E.A.; SANTOS, R.L. Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 169, p. 193–197, 2010.

MAURICIO, I.L.; HOWARD, M.K.; STOTHARD, J.R.; MILES, M.A. Genetic diversity in the *Leishmania donovani* complex. **Parasitol.**, London, v. 119, p. 237-246, 1999.

MCCAUGHEY, W.J.; FAIRLEI, J.S. Leptospirosis in Irish wildlife. **Vet. Rec.**, v. 89, n. 16, p. 447, 1971.

MCKENNA, M.C.; BELL, S.K. **Classification of mammals: above the species level**. New York: Columbia University Press, 1997. 631p.

MEDRI, I.M.; MOURÃO, G.D.M.; RODRIGUES, F.H.G. Ordem Xenarthra (cap. 04), In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Nélío R. dos Reis, p.71-99, 2006.

MEDRI, I. M. **Ecologia e história natural do tatu-peba, *Euphractus sexcinctus* (Linnaeus, 1758), no Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul**. 2008. 187f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília. 2008.

MEREDITH, S.E.O., KROON, N.C.M.; SONDORP, E.; SEAMAN, J.; GORIS, M G.; C W VAN INGEN, OOSTING, H.; SCHOONE, G.J.; TERPSTRA, W.J.; OSKAM, L. *Leish-KIT*, a stable direct agglutination test based on freeze-dried antigen for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. **J. Clin. Microbiol.**; v. 33, n. 7, p. 1742-1745, 1995.

MICHNA, S.W. Leptospirosis. *The Vet. Rec.*, v. 86, p. 484-96, 1970.

MINNETE, H.P. Leptospirosis in primates other than man. **Americ. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 15, n.2, p. 190–198, 1966.

MOHAMMADIHA, A.; HAGHIGHI, A.; MOHEBALI, M.; MAHDIAN, R.; ABADIE, A.R.; ZAREIB, Z.; YEGANEHF, F.; KAZEMIA, B.; TAGHIPOURA, G.N.; AKHOUNDIB, B.; BARATIB, M.; MAHMOUDIA, M.R. Canine visceral leishmaniasis: A comparative study of real-time PCR, conventional PCR, and direct agglutination on sera for the detection of *Leishmania infantum* infection. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 18; n. 192(1-3), p. 83-90, 2013.

MOLINA, R.; JIMENEZ, M.I.; CRUZ, I.; IRISO, A.; MARTÍN-MARTÍN, I.; SEVILLANO, O.; MELERO, S.; BERNAL, J. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 190, p. 268-271, 2012.

MONTALVO, A.M.; FRAGA, J.; MONZOTE, C.L.; GARCIA, G.; FONSECA, L. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. **Rev. Cub. Med. Trop.**, Habana, v. 64, n. 2, 2012.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, n. 9425, p. 1965-1976, 2004.

MUÑOZ-ZANZI, C.A.; FRY, P.; LESINA, B.; HILL, D. Toxoplasma gondii oocyst-specific antibodies and source of infection. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v. 16, n. 10, p. 1591-1593, 2010.

MYERS, D.M. **Manual de Métodos para el Diagnóstico de Laboratorio de la Leptospirosis**. Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis, OPS. 1985. 46p.

NAIFF, R.D.; FREITAS, R.A.; NAIFF, M.F.; ARIAS, J.R.; BARRET, T.V.; MOMEN, H.; GRIMALDI JÚNIOR, G. Epidemiological and nosological aspects of *Leishmania naiffi* Lainson & Shaw, 1989. *Mem. Instit. Osw. Cruz*, v. 86, n. 3, p. 317-321, 1991.

NERIS, N.; COLMAN, F.; OVELAR, E.; SUKIGARA, N.; ISHII, N. **Guía de Mamíferos Medianos y Grandes del Paraguay: Distribución, Tendencia Poblacional y Utilización**. SEAM, Asunción, 2002. 165p.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1985. 445p.

NOWAK, R. M. **Walkers mammals of the world**. 6. ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1999. 836p.

NUNES, O. C. **Animais Silvestres e Zoonoses: o Exemplo da Salmonelose em jabutis piranga (*Geochelone carbonaria*)**. 2007. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos), Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, 2007.

NUNES, O. C.; OLIVEIRA, E. D.; LABORDA, S. S.; HOHLENWERGER, J. C.; MORAES NETO, M.; FRANKE, R. C. Isolamento e identificação de *Salmonella sp.* de Jabutis piranga (*Chelonoidis carbonaria*) oriundos do tráfico de Animais silvestres. **Rev. Ciênc. Anim. Brasil.**, Goiânia, v. 11 n. 1, p. 168-173, 2010.

OLIVEIRA, S.V.; ARSKY, M.L.N.S.; CALDAS, E.P. Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica. **Saúde (Santa Maria)**, v. 39, n. 1, p. 9-20, 2013.

OROZCO, M. M.; ENRIQUEZ, G. F.; ALVARADO-OTEGUI, J. A.; CARDINAL, M.V.; SCHIJMAN, A.G., KITRON, U.; GÜRTLER, R.E. New sylvatic hosts of *Trypanosoma cruzi* and their reservoir competence in the humid Chaco of Argentina: a longitudinal study. **The American J. Tropic. Med. and Hygiene**, v. 88, n. 5, p. 872-882, 2013.

PAPADOGIANNAKIS, E.; SPANAKOS, G.; KONTOS, V.; MENOUNOS, P.G.; TEGOS, N.; VAKALIS, N. Molecular detection of *Leishmania infantum* in wild rodents (*Rattus norvegicus*) in Greece. *Zoon. Pub. Heal.*, v. 57, p. 23–25, 2010.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books , 1996. 524p.

PENA, H. F. J.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; SU, C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. **Internat. Journ. for Parasitol.**, v. 38, n. 5, p. 561-569, 2008.

PEREIRA JR, H. R. J.; JORGE, W.; BAGAGLI, E. **Por que Tatu? Ciência Hoje**, v. 34, n. 199, p. 70-73, 2003.

PINTO, L. D.; ARAUJO, F.A.P.; STOBBE, N. S.; MARQUES, S. M. T. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. **Ciênc. Rur.**, v. 39, n. 8, p. 2464-2469, 2009.

PLANK, R, DEAN, D. Overview of the epidemiology , microbiology , and pathogenesis of *Leptospira spp.* in humans. *Microb. Infect.*, Paris, v. 2, n. 1, p. 1265-6, 2000.

PRADO, P.F.; ROCHA, M.F.; SOUSA, J.F.; CALDEIRA, D.I.; PAZ, G.F.; DIAS, E.S. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Montes Claros, State of Minas Gerais, Brazil, between 2007 and 2009. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, n. 5, p. 561-566, 2011.

QUEIROZ, B.D. **Principais Doenças Respiratórias que Acometem Psitacídeos e Passeriformes Criados como Animais de Estimação**. 2008. 98f. TCC (Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens e Exóticos) – Qualittas Qualificação Profissional, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro. 2008.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 1. ed. São Paulo: Artmed, 2005. 512p.

REDFORD, K.H; WETZEL, R. M. Mammalian Species: *Euphractus sexcinctus*. **The Americ. Societ. Mammalog.**, v. 252, p. 1-4, 1985.

REDFORD, K.H. The Edentates of the Cerrado. **Edentata**, n.1, p4-10, 1994.

REITHINGER, R. Leishmaniasis' Burden of Disease: Ways Forward for Getting from Speculation to Reality. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 2, n. 10, p. e285., 2008.

RICHINI-PEREIRA, V.B.; BOSCO, S.M.G.; THEODORO, R.C.; BARROZO, L.; PEDRINI, S.C.B.; ROSA, P.S.; BABAGLI, E. Importance of xenarthrans in the eco-epidemiology of *Paracoccidioides brasiliensis*. **BMC Research Notes**, n. 2, p. 228, 2009.

RIET-CORREA, F.; LEMOS, R.A.A. Leptospirose. In: RIET-CORREA, F. et.al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. São Paulo: Varela. 2001. p. 275-282.

RODRIGUES, T.C.S.; SANTOS, A.L.Q.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C.; GOMES, D.O.; TAVARES, T.C.; AZEVEDO, F.C.; LEMOS, F.G.; ARRAIS, R.C. Ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em canídeos selvagens de vida livre do cerrado brasileiro. **Vet. Not.**, Uberlândia, v. 18, n. 2(supl.), p. 51-56, 2012.

ROLÃO, N.; MARTINS, M.J.; JOÃO, A.; CAMPINO, L. Equine infection with *Leishmania* in Portugal. *Parasite*, v. 12, p. 183–186, 2005.

ROQUE, A.L.R.; JANSEN, A.M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **Int. J. Parasitol.: Parasit. Wild.**, v. 3, n. 3, p. 251-262, 2014.

ROTH, E.E.; GREER, B.; MOORE, M.; NEWMAN, K.; SANFORD, G.E.; ADAMS, W.V. Serologic analysis of two new related leptospiral serotypes isolated in Louisiana. **Zoonoses Res.**, v. 65, p. 31-8, 1964.

SANTA ROSA, C.A.; SULZER, C.R.; GIORGI, W.; SILVA, A.S.; YANAGUITA, R.M.; LOBÃO, A.O. Leptospirosis in wildlife in Brazil; isolation of a new serotype in the pyrogenes group. **Americ. J. Vet. Res.**, v. 36, n. 9, p. 1363-5, 1975.

SANTIAGO, M.E.; VASCONCELOS, R.O.; FATTORI, K.R.; MUNARI, D.P.; MICHELIN, A.; LIMA, E.F.V.M. An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Vet. Parasitol.**, v. 150, p. 283–290, 2007.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M.; FEDULLO, J.D.L.; SIMON, F.; CARDOSO, M.V.; CASTRO, V.; MYASHIRO, S.; GENOVEZ, M.E. *Leptospira* spp. detection by polymerase chain reaction (PCR) in clinical sample of captive Black-Capped Capuchin Monkey (*Cebus apella*). **Brazil. J. Microbiol.**, v. 34, n. 2, p. 143-146, 2003.

SCHENK, M.A.M.; ÁVILA, F.A.; LIMA, J.D.; SCHENK, J.A.P. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em tatus (*Dasypus novemcinctus*) capturados em Minas Gerais, Brasil. **Arq. Esc. Vet. UFMG**, v. 28, p. 33–35, 1976.

SERCUNDES, M. K. **Filogenia molecular dos protozoários pertencentes à subfamília Toxoplasmatinae pela análise de genes mitocondriais e de apicoplasto**. 2010. 94f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo. 2010.

SHARMA, S.; VIJAYACHARI, P.; SUGUNAN, A.P.; SEHGAL, S.C. Leptospiral carrier state and seroprevalence among animal population – a cross-sectional sample

survey in Andamana and Nicobar Islands. **Epidemiol. Infect.**, v. 131, n. 2, p. 985-9, 2003.

SHAW, J. J. The relationship of sand fly ecology to the transmission of leishmaniasis in South America with particular reference to Brazil. **Contributions to the knowledge of Diptera: a collection of articles on Diptera commemorating the life and work of Graham B. Fairchild**, 1999. p. 503-517.

SHAW, J.J. Further thoughts on the use of the name *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 5, p. 577-579, 2006.

SIEMERING, H. Zoonose. In: FOWLER, M.E. **Zoo and wild animal medicine**. Califórnia: Saunders Company, 1993. p. 64-68.

SILVA JÚNIOR, J. S.; NUNES, A. P. The Disjunct Geographical Distribution of the Yellow Armadillo, *Euphractus sexcinctus* (Xenarthra, Dasypodidae). **Edentata**, v. 4, p. 16-18, 2001.

SILVA JÚNIOR, J.S.; FERNANDES, M.E.B.; CERQUEIRA, R. New records of the yellow armadillo (*Euphractus sexcinctus*) in the state of Maranhão, Brazil (Xenarthra, Dasypodidae). **Edentata**, n. 4, p. 18-23, 2001.

SILVA, A.V.; BOSCO, S.D.M.G.; LANGONI, H.; BAGAGLI E. Study of *Toxoplasma* infection in Brazilian wild mammals: Serological evidence in *Dasypus novemcinctus* Linnaeus, 1758 and *Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830. **Vet. Parasitol.**, v. 135, n. 1, p. 81-83, 2006.

SILVA, J.B.; FONSECA, A.H.; ANDRADE, S.J.T.; SILVA, A.G.M.; OLIVEIRA, C.M.C.; BARBOSA, J.D. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Estado do Pará. **Pesq. Vet. Brasil.**, v. 33, n. 5, p. 581-585, 2013.

SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M.T.; LINS, L.V. **Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2003. 382p.

SILVA, J.C.R. Toxoplasmose. In: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca. 2007. p. 768-784.

SILVA, R. C.; ZETUN, C. B.; BOSCO, S. D. M. G.; BAGAGLI, E.; ROSA, P. S.; LANGONI, H. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira spp.* infection in free-ranging armadillos. **Vet. Parasitol.**, v. 157, n. 3, p. 291-293, 2008.

SILVA, R.C. Diferenciação entre os estágios agudo e crônico na infecção toxoplásmica pelas técnicas de aglutinação direta modificada e imunofluorescência indireta. 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2006.

SILVA, R.C.; ZETUN, C.B.; BOSCO, S.M.G.; BAGAGLI, E.; ROSA, P.S.; LANGONI, H. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira spp.* Infection in free-ranging armadillos. **Vet. Parasitol.**, v. 157, p. 291–293, 2008.

SILVA, T.L.S.; SOUSA, F.D.N.; QUEIROZ, J.P.A.F.; BATISTA, J.S. Aspectos de bem-estar animal na criação em cativeiro do tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) no município de serra do mel, RN. Associação Brasileira de Zootecnia. ZOOTEC, 2008.

SILVEIRA, L.H. **Caracterização biológica e genotípica de isolados de *Toxoplasma gondii* obtidos de galinhas de criação livre do Pantanal do Mato Grosso do Sul.** 2009. 136f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

SOUZA, T.D.; TURCHETTI, A.P.; FUJIWARA R.T., PAIXÃO T.A.; SANTOS R.L. Visceral leishmaniasis in zoo and wildlife. **Vet. Parasitol.**, v. 200, p. 233-241, 2014.

STERLING, C.R.; THIERMANN, A.B. Urban rats as chronic carriers of leptospirosis: an ultrastructural investigation. **Vet. Patholog.**, v. 18, n. 628-637, 1981.

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

SZYFRES, B. Leptospirosis an animal and public health problem in Latin America and the Caribbean Area. Panameric. Healt. Organiz. Bullet., Washington, v. 10, n.1, p. 10-25, 1976.

TAYLOR, L.H.; LATHAM, S.M.; MARK, E.J. Risk factors for human disease emergence. **Philosophic. Transac. Roy. Soc. London Biologic. Scienc.**, v. 356, n. 1411, p. 983-989, 2001.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Internat. J. Parasitol., Oxford, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.

THOISY, B. de; DEMAR, M.; AZNAR, C.; CARME, B. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free ranging Neotropical mammals. **J. Wildl. Dis.**, v. 39, n. 2, p. 456-459, 2003.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária.** 2. ed. São Paulo: Roca, 2004. 556p.

TURNER, L.H. Leptospirosis I. **Transact. Roy. Soc. Trop. Medic. Hyg.**, v. 61, n.6, p. 842-855, 1967.

_____. Leptospirosis III. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.64, p.623-646, 1970.

VASCONCELLOS, S.A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Comum. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. USP**, v. 3, p. 189-195, 1979.

_____. O papel dos reservatórios na manutenção das leptospirosas na natureza. **Comunid. Científ. Fac. Medic. Vet. Zoot., Universidade de São Paulo**, v. 11, n. 1, p. 17-24, 1987.

_____. Detection of *Leptospira* in two free living populations of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from São Paulo State, Brazil. **Int. Leptospir. Societ.**, Barbados, p. 62, 2002.

_____. Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: **Simposio internacional sobre leptospira y leptospirosis em las Americas**. 2004. México. Divisões educacion continua de la Universidade Nacional Autônoma do México. 2004, México. Anais... v.1, p.70-76, 2004.

VEEKEN, H.; RITMEIJER, K.; SEAMAN, J.; DAVIDSON, R. Comparison of an rK39 dipstick rapid test with direct agglutination test and splenic aspiration for the diagnosis. **Vet. Parasitol.**, v. 149, p. 139–146, 2003.

VEIGAS, S.A.R.A.; CALDAS, E.M.; OLIVEIRA, E.M.D. Aglutininas anti-*leptospira* em hemossoro de animais domésticos de diferentes espécies, no Estado da Bahia, 1997/1999. **Revist. Brasil. Saúd. Prod. Anim.**,v. 1, p. 1-6, 2001.

VIDOTTO, O. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina-PR. **Semina**, v. 11, n. 1, p. 53-59, 1992.

VIEIRA, M.L. **Interação de *Leptospira interrogans* com o sistema proteolítico plasminogênio/plasmina: análise, caracterização e possíveis implicações na infecção**. 2012. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Biotecnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

VITALIANO, S.N.; SOARES, H.S.; MINERVINO, A.H.H.; SANTOS, A.L.Q.; WERTHER, K.; MARVULO, M.F.V.; SIQUEIRA, D.B.; PENA, H.F.J.; SOARES, R.M.; SU, C.; GENNARI, S.M. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from Brazilian wildlife revealed abundant new genotypes. **Internat. J. Parasitol.: Parasit. Wild.** v. 3, n. 3, p. 276-283, 2014.

VOLF, P.; BENKOVA, I.; MYSKOVA, J.; SADLOVA, J.; CAMPINO, L.; RAVEL, C. Increased transmission potential of *Leishmania major/Leishmania infantum* hybrids. **Internat. J. Parasitol.**, New York, v. 37, p. 589–593, 2007.

WANG, E. Diets of ocelots (*Leopardus pardalis*), margays (*L. wiedii*), and oncillas (*L. tigrinus*) in the Atlant rainforest in southeast, Brazil. **Stud. Neotrop. Fauna Environ.**, v. 37, p. 207–21, 2002.

WENDTE, J. M.; GIBSONA, A. K.; GRIGG, M. E. Population genetics of *Toxoplasma gondii*: New perspectives from parasite genotypes in wildlife. **Vet. Parasitol.**, v. 182, n. 1, p. 96-111, 2011.

WETZEL, R.M. The taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae. In: MONTGOMERY, G.G. **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**, Texas: Smithsonian Institution Press, 1985. p. 23-46.

WILSON, M.; WARE, D.; JURANEK, D. Serologic aspects of toxoplasmosis. **J. Americ. Vet. Medic. Associat.**, v. 196, n. 2, p. 277-281, 1990.

WOLFE, B.A. Toxoplasmosis. In: FOWLER, M.E.; MILLER, R.E. **Zoo and Wild Animal Medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2003. p. 745-749.

WOLFE, N.D.; DUNAVAN, C.P.; DIAMOND, J. Origins of major human infectious diseases. **Nat.**, v. 447, n. 7142, p. 279-283, 2007.

WOOLHOUSE, M.E.J.; GOWTAGE-SEQUERIA, S. Host range and emerging and reemerging pathogens. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 11, p. 1842–1847, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of a WHO expert group. Current problems in leptospirosis research. World Health Organization Technical Report Series, Geneva, n. 380, p. 1-32, 1967.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO recommended standards and strategies for surveillance, prevention and control of communicable diseases. 2007. Disponível em: <http://data.unaids.org/publications/irc-pub04/surveillancestandards_en.pdf> Acesso em: 06, fev, 2015.

XIMENES, M.F.; SOUZA, M.F.; CASTELLÓN, E.G. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 427–432, 1999.

YAI, L.E.O. **Caracterização biológica e genotípica de isolados de *Toxoplasma gondii* de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) do Estado de São Paulo**. 2007. 138f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.