

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leptospira*
spp. E ANTI-*Toxoplasma gondii* EM QUATIS (*Nasua nasua*)
PROVENIENTES DO PARQUE ECOLÓGICO DO TIETÊ, SÃO
PAULO, BRASIL, 2015**

GISELE JUNQUEIRA DOS SANTOS

BOTUCATU- SP
2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leptospira*
spp. E ANTI- *Toxoplasma gondii* EM QUATIS (*Nasua nasua*)
PROVENIENTES DO PARQUE ECOLÓGICO DO TIETÊ, SÃO
PAULO, BRASIL, 2015**

GISELE JUNQUEIRA DOS SANTOS

Dissertação apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santos, Gisele Junqueira dos.

Soroprevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti- *Toxoplasma gondii* em quatis (*Nasua nasua*) provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil / Gisele Junqueira dos Santos. - Botucatu, 2015

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Antonio Carlos Paes

Capes: 50502034

1. Toxoplasmose em animais. 2. *Toxoplasma gondii*. 3. *Leptospira*. 4. Quati - Doenças. 5. Zoonoses.

Palavras-chave: *Leptospira* spp.; Quati; *Toxoplasma gondii*; Zoonoses.

Nome do Autor: Gisele Junqueira dos Santos

Título: **SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leptospira* spp. E ANTI-*Toxoplasma gondii* EM QUATIS (*Nasua nasua*) PROVENIENTES DO PARQUE ECOLÓGICO DO TIETÊ, SÃO PAULO, BRASIL, 2015.**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adjunto Dr. Antonio Carlos Paes

Presidente e orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ-UNESP Botucatu/SP

Prof. Titular Dr. Helio Langoni

Membro titular

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ-UNESP Botucatu/SP

Prof. Dr. Rogério Giuffrida

Membro titular

Departamento de Medicina Veterinária
UNOESTE- Presidente Prudente/SP

Profa. Simone Baldini Lucheis

Membro suplente

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ-UNESP Botucatu/SP

Prof. Dr. Osimar de Carvalho Sanches

Membro suplente

Centro de Diagnóstico Veterinário CDAPVET

Data da defesa: 29/07/2015 Local: FMVZ/UNESP- Campus Botucatu/SP

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais **María Cecília** e **Antônio Carlos**, que me apoiam e estimulam para o sucesso de mais uma conquista nessa caminhada.*

*Às minhas tias **María Inês** e **María Lúcia** que sempre estiveram ao meu lado me orientando, incentivando para mais uma vitória desta jornada.*

*Nesta oportunidade dedico meu mestrado aos mui queridos e amados avós: **vovô Carlos** e **vovó Jessie** “*in memoriam*”.*

Obrigada!

Gísele Junqueira dos Santos

AGRADECIMENTOS

*Agradeço aos meus pais **Maria Cecília** e **Antonio Carlos**, à minha irmã **Danieli** e ao meu cunhado **Juninho** que estão sempre ao meu lado nos momentos de alegrias, tristezas, dificuldades e de glória.*

*Em especial e com grande carinho e consideração ao meu orientador **Antonio Carlos Paes**, por me aceitar como orientada acreditando em meu potencial.*

*Ao Professor **Hélio Langoni**, por ter cedido o Laboratório de Zoonoses para a realização dos testes sorológicos, e por fazer parte da banca examinadora, contribuindo com seu conhecimento e ajudando em meu crescimento profissional.*

*À Médica Veterinária do Parque Ecológico do Tietê **Liliane Milanelo**, por ter disponibilizado as amostras sorológicas dos quatis (*Nasua nasua*) para a realização deste trabalho.*

*Ao Doutorando **Ramiro das Neves Dias Neto**, por ter colaborado na realização deste mestrado.*

*À Professora **Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt**, que me orientou durante a residência, sou grata por ela fazer parte de minha trajetória acadêmica.*

*A pedagoga e amiga **Eliana Curvelo**, por me ajudar, aconselhar, tirando dúvidas e fortalecendo assim minha caminhada acadêmica.*

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos.

À Doutora Lara Cristina Antunes dos Santos e à Doutora Maria Dalva Lourenceti, que me ajudaram nos momentos difíceis.

À Juliana Hoffmann e Letícia Benine por me ouvirem, aconselharem, e ajudarem durante esse mestrado.

À Marlene Dias Camargo e Maricília Rossetto, pela amizade conquistada durante minha residência e sempre me aconselhando em todos os momentos.

À residente do Laboratório de Zoonoses Letícia Batista, por me ajudar e ensinar a realizar as técnicas sorológicas.

Às amigas Denise Theodoro, Daniela Akemi e Paula Onari, que durante esse período compartilharam alegrias, tristezas, valendo e muito a amizade conquistada.

Ao amigo, conselheiro, confidente, Sílvano Geraldes que contei com seu apoio desde a residência até hoje.

Agradeço a todos, com carinho, que direta ou indiretamente fizeram parte desde a elaboração, montagem e finalização desses dois anos de mestrado.

Obrigada!

Gisele Junqueira dos Santos

*Embora ninguém possa voltar atrás
e fazer um novo começo, qualquer
um pode começar de novo e fazer
um novo fim” (Chico Xavier).*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Relação de sorovares de <i>Leptospira</i> spp. utilizados no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ), UNESP Botucatu- São Paulo, 2015.....	35
Tabela 2	Resposta sorológica em 108 quatis (<i>Nasua nasua</i>) pelo Teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para Leptospirose. Botucatu- SP, 2015.....	38
Tabela 3	Sorovares reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em 12 quatis (<i>Nasua nasua</i>). Botucatu- SP, 2015.....	49
Tabela 4	Título de Anticorpos para <i>Leptospira</i> spp. apresentado em 12 quatis (<i>Nasua nasua</i>) avaliados pela prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Botucatu- SP. 2015.....	39
Tabela 5	Resposta sorológica em 108 quatis (<i>Nasua nasua</i>) pelo Teste de Aglutinação Direta Modificada (MAD) para Toxoplasmose. Botucatu- SP, 2015.....	40
Tabela 6	Título de Anticorpos para <i>Toxoplasma gondii</i> apresentado em 18 quatis (<i>Nasua nasua</i>) avaliados pela prova de Aglutinação Direta Modificada (MAD) Botucatu- SP. 2015.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Quati (<i>Nasua nasua</i>).....	14
Figura 2	Visitantes do Parque Ecológico do Tietê em contato com quatis.....	32
Figura 3	Quati solto pelo parque se alimentando.....	33
Figura 4	Visitante do parque correndo risco de acidente com quati.....	33
Figura 5	Reação de aglutinação em amostras de soro. 1) Controle sabidamente negativo, 2) Controle sabidamente positivo. Botucatu, 2015.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
ELISA	Ensaio Imunoenzimático Indireto
FC	Fixação de Complemento
HAI	Hemaglutinação Indireta
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade
IC	Intervalo de Confiança
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulinas M
MAD	Método de Aglutinação Direta Modificada
RIFI	Reação de Imunofluorescência indireta
rpm	Rotação por minuto
SAM	Soroaglutinação microscópica
SISBio	Sistema de Autorização em Biodiversidade
SSTF	Solução Salina Tamponada de Fosfato
OIE	Organização internacional
OMS	Organização Mundial da Saúde
Ph	Potencial Hidrogeniônica
SST	Solução Salina Tamponada de Fosfatos
UA	Unidade Aglutinante
UI	Unidade Internacional
α	alfa
°C	Graus Celcius
%	Porcentagem
g	Gramas
μ L	Microlitro
mL	Mililitro
x g	Veze a gravidade

SUMÁRIO

RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVO.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1. LEPTOSPIROSE.....	18
3.1.1. Etiologia.....	18
3.1.2. Reservatório.....	20
3.1.3. Patogenia.....	22
3.1.4. Sinais Clínicos.....	23
3.1.5. Diagnóstico.....	23
3.1.6. Tratamento e Profilaxia.....	24
3.2. TOXOPLASMOSE.....	25
3.2.1. Etiologia.....	26
3.2.2. Aspectos relacionados aos genótipos do <i>T. gondii</i>	27
3.2.3. Manifestações Clínicas.....	27
3.2.4. Diagnóstico.....	28
3.2.5. Prevenção e Controle.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1. Delineamento Experimental.....	31
4.2. Animais.....	31
4.3. Provas Sorológicas.....	34
4.3.1. Soroaglutinação Microscópica (SAM).....	34
4.3.2. Produção de antígeno para o método de aglutinação direta modificada (MAD).....	36
4.3.3. Método de Aglutinação Modificada.....	37
5. RESULTADOS.....	38
6. DISCUSSÃO.....	41
7. CONCLUSÃO.....	43
8. REFERÊNCIAS.....	44
9. ARTIGO CIENTÍFICO.....	53
10. ANEXOS.....	70

SANTOS, G.J. **Soroprevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti- *Toxoplasma gondii* em Quatis (*Nasua nasua*) provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Botucatu, 2015.** Botucatu, 2015. 71p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, São Paulo.

RESUMO

A toxoplasmose e a leptospirose são doenças zoonóticas que acometem animais domésticos e selvagens. Inquéritos soropidemiológicos em quatis (*Nasua nasua*) são importantes para conhecimento, vigilância e controle de doenças. O objetivo deste trabalho foi verificar a soroprevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti *Toxoplasma gondii*, em 108 amostras de soro de quatis mantidos em vida livre, provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi utilizado o teste de aglutinação modificada (MAT) verificando soroprevalência de 18 animais (16,67%) positivos e 90 animais (83,33%) negativos (IC 95%= 0,09- 0,23). Dos 18 animais positivos a frequência dos títulos apresentados foram: 25 (n=8; 44,44%), 50 (n=3; 16,67%), 100 (n=3; 16,67%), 200 (n=1; 5,56%) e 400 (n=3; 16,67%). Para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi utilizado o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM), sendo 96 animais negativos (88,89%) e 12 animais positivos, correspondente a soroprevalência de 11,11% (IC 95%= 6,0- 19), e os sorovares reagentes encontrados foram *Butembo* (n=2; 16,67%); *Whitcombi* (n=1; 8,33%); *Sentot* (n=1; 8,33%); *Gryppotyphosa* (n=1; 8,33%); *Panama* (n=1; 8,33%); *Hardjo bovis* (n=1; 8,33%); *Hardjo ctg* (n=1; 8,33%); *Hardjo prajitno* (n=4; 33,33%) e a frequência dos títulos apresentados foi: 100 (n=5; 41,67%); 200 (n=5; 41,67%); 400 (n=2; 16,67%). Portanto o presente estudo demonstra a importância da avaliação sorológica anti-*Toxoplasma gondii* e anti- *Leptospira* spp. em quatis de vida livre, o que avalia os aspectos epidemiológicos relacionados a estas zoonoses e riscos para a saúde pública, pois mantém contato com humanos.

Palavras chave: *Leptospira* spp.; quati, *Toxoplasma gondii*; zoonoses

SANTOS, G.J. **Soroprevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti-*Toxoplasma gondii* em Quatis (*Nasua nasua*) provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Botucatu, 2015.** Botucatu, 2015. 71p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, São Paulo.

ABSTRACT

The toxoplasmosis and leptospirosis are zoonotic diseases that affect domestic and wild animals. Seroepidemiological surveys in coatis (*Nasua nasua*) is important for information, surveillance and disease control. The objective of this study was to determine the seroprevalence of antibody against *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* in 108 samples of coatis serum maintained in the wild, from the Ecological Park of Tietê, São Paulo, Brazil. For research of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies we used the modified agglutination test (MAT) and 18 animals (16.67%) were soropositive and 90 animals (83.33%) negative (95% CI = 0,09- 0.23). Of the 18 positive animals positive the frequency of the antibodies were: 25 (n = 8; 44.44%), 50 (n = 3; 16.67%), 100 (n = 3; 16.67%), 200 (n = 1; 5.56%) and 400 (n = 3; 16.67%). To search the anti-*Leptospira* spp antibodies. It was used the Microscopic Agglutination Test test (MAT), and 96 were negative 88.89%) and 12 positive (11,11%) (95% CI = 6,0- 19). The serovars reagents Butembo (n = 2; 16.67%); Whitcombi (n = 1; 8.33%); Sentot (n = 1; 8.33%); Gryppotyphosa (n = 1; 8.33%); Panama (n = 1; 8.33%); Hardjo bovis (n = 1; 8.33%); Hardjo ctg (n = 1; 8.33%); Hardjo prajitno (n = 4; 33.33%). The frequency of the presented titles were 100 (n = 5; 41.67%); 200 (n = 5; 41.67%); 400 (n = 2; 16.67%). Therefore, this study demonstrates the importance of evaluating the serological response to anti-*Toxoplasma gondii* and for anti-*Leptospira* spp. of captive animals to assess epidemiological aspects related to these zoonoses and risks to public health because it maintains contact with humans.

Key words: *Leptospira* spp.; coati; *Toxoplasma gondii*; zoonoses

1. INTRODUÇÃO

A família Procyonidae (Gray, 1825) pertence a ordem Carnívora, sendo dividida em duas subfamílias: Procyoninae e Ailurinae (TEIXEIRA e AMBROSIO; 2014). Os procionídeos compreendem seis gêneros com 18 espécies, geograficamente distribuídas nas Américas. Na América do Sul encontram-se quatro gêneros que englobam desde espécies arbóreas tropicais essencialmente frugívoras, como o jupará (*Potos* spp.) e o olingo (*Bassaricyon* spp.), até espécies onívoras de hábitos terrestres e arbóreos encontradas em diferentes habitats, como os quatis (*Nasua* spp.) e os guaxinins (*Procyon* spp.) (GUIMARÃES et al., 2012; TEIXEIRA e AMBROSIO, 2014).

Nasua nasua (Linnaeus, 1766), pode ser facilmente identificado pelo formato do corpo e focinho longo, olhos e orelhas pequenas, arredondadas, de coloração esbranquiçada na parte interna e escura em membros. O focinho longo é uma estrutura importante de sobrevivência, pois sua flexibilidade possibilita explorar ocos de árvores, ninhos e tocas e, por meio do olfato consegue encontrar pequenos vertebrados. Os procionídeos são onívoros e, portanto, são capazes de obter os nutrientes a partir de uma grande variedade alimentar na natureza (TEIXEIRA e AMBROSIO, 2014).



Figura1: Quati (*Nasua nasua*) cedida por VIEIRA, A.A, 2015

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial que acomete animais domésticos e selvagens. Sua manifestação está relacionada a alta ocorrência de roedores infectados e precárias condições sanitárias (BRASIL et al., 2013). Há ampla variedade de espécies selvagens vivendo em condições diferentes do seu habitat natural, que representa um ambiente propício à disseminação de doenças, muitas delas zoonóticas (PIMENTEL et al., 2009). A participação dos animais selvagens como reservatórios ou portadores de zoonoses na natureza e em cativeiro é de grande importância (ACHA e SZYFRES, 2003).

Animais silvestres no ambiente urbano podem agir como reservatórios de vários agentes infecciosos. Muitos parques zoológicos se localizam na zona urbana, possibilitando a disseminação de agentes infecciosos por animais silvestres de vida livre para os animais em cativeiro (JUNGE et al., 2007). Parques zoológicos possuem recintos abertos para muitas das espécies mantidas em cativeiro, resultando na exposição dos animais a roedores e gambás predispondo-os às infecções (LENHARO et al., 2012).

A leptospirose em animais selvagens mantidos em cativeiro é importante devido aos mesmos ficarem portadores renais, sendo um risco para os trabalhadores das instalações do jardim zoológico, veterinários e visitantes (SCARCELLI et al., 2003).

Surtos de leptospirose foram associados ao turismo e atividades recreacionais em ambiente silvestre (BHARTI et al., 2003). Desta forma, verifica-se a importância de estudos relacionados ao papel de espécies de animais silvestres como reservatórios, tanto no ambiente silvestre como em cativeiro (LENHARO et al., 2012).

Toxoplasma gondii, é um protozoário intracelular obrigatório, podendo infectar várias espécies de animais considerando-se um agente patogénico significativo, de carácter zoonótico (ACHA e SZYFRES, 2003, CENCI -CONGA et al., 2011). Também pode infectar vários tipos de células a partir de uma ampla variedade de mamíferos e de aves em todo o mundo, incluindo os seres humanos e primatas não-humanos (SILVA et al., 2013).

A toxoplasmose pode causar infecção disseminada aguda com pneumonia intersticial aguda e necrose hepatocelular focal, febre, anorexia,

vômito e diarreia principalmente quando relacionada a fatores imunossupressores (ANDRADE et al., 2007).

Praticamente todas as espécies de animais são susceptíveis ao *T. gondii* e as taxas de soropositividade e sinais clínicos variam nos diferentes hospedeiros. Por ser um agente causador de zoonoses e por seu impacto à saúde pública, o *Toxoplasma gondii* tem sido o coccídeo mais estudado (TENTER et al., 2000).

Apesar das pesquisas indicarem que os animais selvagens são frequentemente positivos nos testes sorológicos para a toxoplasmose, o papel dessas espécies no ciclo epidemiológico da doença não é bem conhecido (DUBEY, 2012).

2. OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo verificar soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Toxoplasma gondii*, em amostras de soro de 108 Quatis (*Nasua nasua*) mantidos em vida livre provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Procurou demonstrar a importância da pesquisa sorológica para anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* e anti- *Leptospira* spp. em animais de vida livre na tentativa de avaliar aspectos epidemiológicos relacionados a essas duas doenças zoonóticas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. LEPTOSPIROSE

3.1.1. Etiologia

A leptospirose é causada por diversas espécies de bactérias do gênero *Leptospira*, família *Leptospiraceae*, ordem *Spirochaetales*. (GREENE et al., 2012).

Leptospiras são bactérias espiraladas e sua nomenclatura vem do grego *lepto* (fina, delgada) e *spira* (espiral), com aproximadamente de 0,10 a 0,25µm de diâmetro e por 6-25 µm de comprimento, flexíveis, filamentosas e com extremidades em forma de gancho, apresentando alta motilidade e movimentos giratórios ao longo do seu próprio eixo (QUINN et al., 2005, GREENE et al., 2012).

A leptospirose possui característica sazonal, ocorrendo com frequência no verão quando os índices pluviométricos e temperaturas estão elevadas (SARKAR et al., 2002; ROMERO et al., 2003).

Umidade e temperatura entre 28 a 30°C são condições essenciais para a sobrevivência da *Leptospira* spp. no ambiente e pH 7,6, sob aerobiose, é ideal para o crescimento e multiplicação (LEVETT, 2001).

A infecção por *Leptospira* spp. ocorre pelo contato direto com urina ou tecidos de animais infectados, mordeduras, e também pelo contato indireto pela exposição de animais a fontes de água contaminada, solo úmido contaminado, sendo outra forma de infecção a via transplacentária (FELT et al; 2011; GREENE et al; 2012).

A bactéria penetra ativamente ao entrar em contato com mucosas, ocorrendo também penetração de leptospiros pela pele íntegra quando há exposição prolongada, durante banhos em rios ou lagos (LEVETT, 2001)

A ordem *Spirochaetales* é subdividida em 14 gêneros, *Borrelia*, *Brachyspira*, *Brevinema*, *Clevelandina*, *Cristispira*, *Diplocalix*, *Hollandina*, *Leptonema*, *Leptospira*, *Pillotina*, *Serpulina*, *Spirochaeta*, *Trepanema*, *Turneriella* (GOMES,2009). As espécies do gênero *Leptospira* podem ser

classificadas em mais de 250 sorovares agrupados em 24 sorogrupos (FAINE, 1999).

Até 1989 se conheciam duas espécies: *L.interrogans*, que agrupava as bactérias patogênicas; contendo mais de 200 sorovares e *L. biflexa*, que incluía bactérias saprófitas, não-patogênicas, presentes no ambiente com mais de 60 sorovares (LEVETT,2001; GREENE et al., 2006).

A classificação sorológica é importante para a epidemiologia, por esse motivo a taxonomia da família Leptospiraceae passou a ser baseada na classificação genotípica após heterogeneidade genética de espécie agrupada em um mesmo sorovar (BRENNER et al., 1999).

Espécies patogênicas e saprófitas, são categorizadas nas genomoespécies um, três, quatro e cinco (ADLER e DE LA PENA MOCTEZUMA, 2010).

Em 2007 na reunião do Subcomitê de Taxonomia da família Leptospiraceae, realizada em Quito, Equador, a espécie *L. interrogans* foi reclassificada em 13 espécies patogênicas: *L. Alexanderi*, *L. alstonii* (genomoespecies um), *L. borgpeterseni*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L.kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae* (genomoespécies três), *L. weilii* e *L.wolfii* (genomoespécies cinco) distribuídas em mais de 260 sorovariedades agrupadas em 23 sorogrupos. Também foram reconhecidas seis leptospiros saprófitas com mais de 60 sorovares sendo as principais *L.biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae* (genomoespecies cinco) e *L. kmetyi*, *L. vantheelii*, *L.wolbachii* (genmoespécies quatro). As leptospiros podem ser divididas de acordo com diferenças fenotípicas ou antigênicas, denominados sorovares. Portanto, um determinado sorovar pode compreender mais de uma espécie de *Leptospira* spp (ADLER e DE LA PENA MOCTEZUMA, 2010).

SMYTHE et al, (2013) sugerem que a classificação das genomoespecies um, genomoespecie três, genomoespecie quatro e genomoespecie cinco respectivamente como *Leptospira alstonii* sp. nov., *Leptospira vanthielii* sp. nov., *Leptospira trepstrae* sp. nov., *Leptospira yanagawae* sp. nov.

LANGONI et al. (2009) avaliaram a soroprevalencia de anticorpos anti-*Leptospira* sp. em 17quatis provenientes de três municípios do Estado de São Paulo, pelo teste de soroaglutinação microscópica, entre eles nove animais apresentaram resultados positivos e foram identificados os sorovares

Copenhageni, Shermani, Andamana, Wolfi, e Pyrogenes, revelando a possibilidade de infecção nesses animais sem sinais clínicos.

ULMANN et al. (2012) realizaram um levantamento epidemiológico da *Leptospira* sp. em mamíferos selvagens no Zoológico de Sorocaba, observaram que em cinco quatis analisados dois foram soropositivos, um para o sorovar Canicola e um outro para o sorovar Copenhageni, e ambos os casos com título 100 UI.

A presença de leptospirosas em várias espécies de animais silvestres como roedores, edentados, carnívoros e artiodáctilos, possibilita que os mesmos possam atuar como fontes de infecção. Desta forma, disseminam o agente pela urina para outros animais, contaminando o meio ambiente, podendo a doença alcançar homens, pois, a leptospirose é uma importante zoonose e sério problema de saúde pública (ACHA e SZYFRES, 2003).

Os animais silvestres são relevantes na epidemiologia da leptospirose, pois, algumas espécies, principalmente pequenos mamíferos, atuam como reservatórios de diversos sorovares (MILLÁN et al., 2009)

3.1.2. Reservatório

Os reservatórios de leptospirosas incluem todos os animais susceptíveis a infecção leptospírica, capazes de eliminar a bactéria pela urina após o período de incubação. Diversas espécies, tanto domésticas como selvagens, podem atuar como reservatórios, e são classificados como primários e secundários (LEVETT, 2001; QUINN et al., 2005). Um reservatório primário é altamente susceptível a infecção, ocorrendo pelo contato direto entre os animais. Os reservatórios primários são eficazes em manter a infecção renal e eliminar leptospirosas pela urina por um longo período de tempo, sendo os maiores responsáveis pela contaminação ambiental (FELT et al., 2011).

Os roedores de hábito sinantrópico são considerados os reservatórios mais importantes de *Leptospira* spp. A espécie *Rattus norvegicus*, popularmente chamada de ratazana, é o reservatório primário de leptospirosas pertencentes ao sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* e *Ballum* (LEVETT, 2001; RAHELINIRINA et al., 2010). É importante levar em consideração que a condição de reservatório

primário ou secundário, pode variar dependendo da região, assim como os sorovares envolvidos (LEVETT, 2001)

Um animal infectado pode ser assintomático, e durante sua vida pode eliminar um dos 250 sorotipos conhecidos do gênero *Leptospira* pela urina (PIMENTEL et al., 2009).

Muitos animais domésticos e selvagens ao se infectar tornam-se portadores renais e potenciais reservatórios (SHARMA et al., 2003). Devido à característica endêmica da leptospirose no Brasil, estudos de soroprevalência em animais silvestres foram realizados em alguns zoológicos brasileiros, incluindo: Zoológico do Rio de Janeiro (LILENBAUM et al., 2002), Fundação Parque Zoológico de São Paulo (CORRÊA et al., 2004), Zoológico Municipal de Uberada (ESTEVES et al., 2005), Zoológico de Aracaju (PIMENTEL et al., 2009), Zoológico de Ribeirão Preto (SILVA et al., 2010); Parque Zoológico Municipal de Bauru (LENHARO et al., 2012) e no mundo como no Zoológico Saint Louis nos Estados Unidos (JUNG et al., 2007) e no Zoológico de Chapultepec no México (LUNA-ALVAREZ et al., 1996).

Um estudo envolvendo sete quatis de um zoológico do Rio de Janeiro, avaliou a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Três deles reagiram para o sorotipo *Icterohemorrhagiae*, o que caracteriza a alta susceptibilidade de animais em cativeiro, em comparação com animais silvestres de vida livre (LILENBAUM et al., 2002)

GIRIO et al. (2004) não encontraram nenhum reagente para *Leptospira* spp. entre nove quatis de vida livre, no entanto, estes animais podem estar infectados sem apresentar resposta imune humoral, com anticorpos detectáveis, provavelmente pelo tempo insuficiente para sua produção, por se encontrarem na fase inicial da infecção.

A infecção por *Leptospira* spp. pode ocorrer em quatis mantidos em cativeiro sem sinais clínicos, mas com anticorpos mensuráveis. A maioria dos animais estudados podem ser reservatórios desta bactéria e, portanto, necessitam de testes sorológicos para leptospirose bem como para outras zoonoses, determinando os riscos ambientais, para os visitantes e trabalhadores do local, visando avaliar o impacto na saúde pública (LANGONI et al; 2009; PIMENTEL et al., 2009).

PIMENTEL et al. (2009) avaliaram 32 mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju- Sergipe, Brasil, para anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti- *Toxoplasma gondii* , sendo que dois quatis apresentaram anticorpos para *Toxoplasma gondii* mas não reagiram para *Leptospira* spp.

SOUZA JÚNIOR et al. (2006) realizaram estudo sorológico para anticorpos anti- *Leptospira* spp. em 427 animais de vida livre resgatados do lago da Usina Hidrelétrica Luís Eduardo Magalhães, Tocantins, sendo 286 macacos prego (*Cebus apella*), 82 bugios (*Alouatta caraya*), 31 quatis (*Nasua nasua*), 10 cachorros do mato (*Cerdocyon thous*), sete cutias (*Dasyprocta* sp.), seis tamanduás mirins (*Tamandua tetradactyla*) e cinco tatus (*Euphractus sexcinctus*) e encontraram soros positivos em 16,1% dos macacos prego, 2,4% dos bugios, 12,9% dos quatis, 20% dos cachorros do mato e os títulos variaram de 100 UI a 1.600 UI.

3.1.3. Patogenia

A infecção por *Leptospira* spp. é dividida em duas fases: aguda e crônica. Ao penetrar no organismo, as leptospiros atingem a corrente sanguínea, o que é denominado leptospiremia, e multiplicam nos tecidos, principalmente pulmões, fígado, baço e rim (GREENE et al; 2012). A fase aguda dura em média uma a duas semanas, caracterizando-se pelo aparecimento de sinais clínicos (LEVETT, 2001; GREENE et al; 2012).

Quando a multiplicação do agente ocorre no endotélio vascular determina um quadro de vasculite generalizada. Os mecanismos imunológicos diminuem a quantidade de leptospiros no organismo, havendo uma maior concentração nos tecidos onde a resposta inflamatória é menos acentuada, principalmente nos túbulos renais (LEVETT, 2001). Se a resposta imune não for suficiente para controlar a infecção, poderá haver manifestações sistêmicas acarretando a morte. *Leptospira* spp. estimula a aderência de neutrófilos e a ativação de plaquetas acarretando processo inflamatório e coagulopatias, e os animais jovens podem desenvolver sinais de disfunção hepática (GREENE et al., 2012).

Durante a fase crônica as leptospiros permanecem principalmente nos rins, se aderem no epitélio dos túbulos renais, se multiplicam e são eliminadas

pela urina de forma intermitente, processo denominado leptospirúria. Essa eliminação renal do micro-organismo ocorre desde 72 horas após a infecção até semanas a meses nos animais domésticos e por toda vida nos roedores (LEVETT, 2001).

3.1.4. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos mais comuns na infecção aguda em cães são: letargia, depressão, anorexia, vômito, febre, poliúria, polidipsia, dor abdominal e/ou lombar, diarreia, mialgia, halitose, úlceras bucais, icterícia, petéquias em mucosas e conjuntivas, acarretando também casos assintomáticos. O quadro pode evoluir rapidamente para a morte sem que haja tempo para o desenvolvimento de doença renal ou hepática evidente (NELSON e COUTO, 2001).

3.1.5. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da leptospirose pode ser realizado por métodos diretos, que identificam a presença do agente etiológico, ou indiretos, que detectam anticorpos específicos contra leptospiros (LEVETT, 2001). O local onde há tendência de persistência da *Leptospira* spp. são os túbulos renais, globo ocular e útero, onde a atividade de anticorpos é mínima, assim disseminando a doença (BROWN et al., 1996).

Os métodos diretos para o diagnóstico de leptospirose são: Microscopia de Campo Escuro em sangue, urina, derrames cavitários e fluído cerebrospinal, permitindo assim a visualização das leptospiros (VINETZ, 2001; GREENE et al., 2006). Porém, esta técnica apresenta pouca sensibilidade e especificidade, devido a intermitência com que as leptospiros são eliminadas pela urina, e a pequena carga bacteriana presente nos demais fluidos do organismo. Resultados negativos não significam ausência de *Leptospira* spp. no animal, e a análise de amostras pareadas é necessária (LEVETT, 2001).

Os métodos indiretos, chamados de sorológicos, os mais utilizados são aqueles baseados na aglutinação de leptospiros (LEVETT, 2001). O método de referência oficial preconizado pela Organização Mundial de Saúde Animal

(OMSA) é o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) (WHO, 2003). O diagnóstico é formado pela reação de aglutinação entre os anticorpos presentes no soro do paciente e o antígeno dos lipopolissacarídeos de membrana de vários sorovares de *Leptospira* spp (FAINE et al., 1999; WHO, 2003).

Outra técnica sorológica recomendada é o ensaio imunoenzimático (ELISA), um teste muito sensível, específico, rápido e com facilidade de execução, porém esta técnica não é capaz de determinar qual o sorovar ou sorogrupo infectante. (ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010; MELO et al., 2010).

3.1.6. Tratamento e Profilaxia

O tratamento depende do estágio e severidade da infecção e dos sinais apresentados (LEVETT, 2001), conforme Noel (2004) o tratamento inicia com fluídoterapia, e associada à administração de antibióticos como a penicilina G cristalina, ceftriaxona, doxiciclina ou ampicilina, e em casos mais severos de anemia realiza-se transfusão sanguínea. Ações profiláticas relativas às fontes de infecção da leptospirose em animais domésticos e selvagens devem ser direcionadas para o saneamento do meio ambiente, visando, principalmente, o controle de roedores que são as principais fontes de infecção para animais e humanos (FAINE et al.; 1999; LEVETT, 2001).

3.2. TOXOPLASMOSE

3.2.1 Etiologia

A toxoplasmose é causada por um protozoário coccídio intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, pertencente ao filo Apicomplexa (FIALHO et al., 2009), família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Toxoplasma* (SERCONDES, 2010). Os felídeos são hospedeiros definitivos, e aves e mamíferos são hospedeiros intermediários (DUBEY e LAPPIN, 2012). O nome do gênero é derivado de Toxon, palavra grega que significa arco e que se refere à forma que os taquizoítos apresentam *in vitro* (SILVA, 2006)

O *Toxoplasma* foi descoberto simultaneamente em 1908 por Splendore, num coelho de laboratório em São Paulo, no Brasil e por Nicolle & Manceaux, no *Ctenodactylus gundi*, um roedor africano usado na pesquisa da leishmaniose no Instituto Pasteur da Tunísia. O parasita, inicialmente considerado como pertencente ao gênero *Leishmania*, foi caracterizado em 1909 por Nicolle e Manceaux como uma nova espécie, o *Toxoplasma gondii* (MEIRELES, 2001; FERGUSON, 2009)

PIMENTEL et al. (2009) descreveram pela primeira vez a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira* spp. com sorovar mais provável Copenhageni em primata ameaçado de extinção macaco-prego-de-peito-amarelo (*C.xanthosternus*) em Aracaju, SE.

O gato doméstico e outras espécies de felídeos são os únicos hospedeiros definitivos conhecidos para o *Toxoplasma gondii* (DUBBEY E LAPPIN, 2012). A transmissão do *T. gondii* pode ocorrer mediante a ingestão de um dos três estágios infectantes (DUBEY, 2008; FERGUSON, 2009): 1.taquizoítos (forma de multiplicação rápida) encontrado em várias células e correspondem a fase de parasitemia; 2. bradizoítos (forma de multiplicação lenta) encontradas em cistos nos tecidos dos animais; 3. esporozoítos encontrados em oocistos que são unicamente eliminado nas fezes dos felídeos (FERREIRA e NAVARRO, 1994; JONES et al., 2001; DUBEY e LAPPIN, 2012).

O ciclo biológico de *T. gondii* apresenta duas fases distintas, sendo uma delas a fase assexuada, que ocorre nos hospedeiros definitivos e intermediários, e a fase sexuada, que acomete somente os felídeos (DUBEY, 2008).

Na fase assexuada ocorre quando, hospedeiros intermediários ou definitivos se infectam com taquizoítos, bradizoítos ou esporozoítos. Estas fases se desenvolverão por endodiogenia e darão origem aos taquizoítos, os quais poderão infectar sistema linfático, sanguíneo ou qualquer órgão (BLACK e BOOTHROYD, 2000). Caso o sistema imune consiga impedir a multiplicação de forma proliferativa, se desenvolvem os cistos tissulares, podendo ficar latente durante toda vida do hospedeiro sem causar sintomatologia (LYONS et al., 2002; KAWAZOE, 2005).

A fase sexuada, chamada de ciclo enteroepitelial, ocorre somente nos felídeos (DUBEY e LAPPIN, 2012). Ocorre quando esporozoítos, bradizoítos ou taquizoítos penetram no epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos e se multiplicam por endodiogenia e originam vários merozoítos, formando-se no interior de vacúolos parasitóforos, podendo romper as células epiteliais e infectar outra de mesma origem (DUBEY, 2009). Os merozoítos originarão os macrogametas e microgametas, caracterizando a fase sexuada do ciclo enteroepitelial (DUBEY, 2010)

As formas sexuais sofrem mutação e originarão os microgametas (gametas masculinos móveis) e macrogametas (gametas femininos imóveis) (BLACK e BOOTHROYD, 2000). Os microgametas fecundam os macrogametas no interior de uma célula epitelial, originando o zigoto. Este evolui para oocisto ainda no epitélio, o qual é eliminado na forma não esporulada nas fezes (DUBEY e LAPPIN, 2012). No meio ambiente, sob condições adequadas, o oocisto sofre maturação após um processo de esporogonia, e contém esporozoítos os quais são infectantes (DUBEY, 2010).

Todas essas vias possuem importância no desenvolvimento da infecção para os hospedeiros, que podem adquirir a toxoplasmose por diferentes vias como a horizontal, por ingestão oral de oocistos esporulados no ambiente ou por ingestão de cistos tissulares na carne crua ou mal cozida; ou adquirir pela via vertical, pela transmissão transplacentária de taquizoítos (TENTER et al., 2000).

A contaminação ambiental por oocistos eliminados por felídeos selvagens foi constatada somente por animais capturados e avaliados que apresentavam episódios de diarreia com eliminação de oocistos no momento da avaliação (CAÑÓN- FRANCO et al., 2013).

JONES e DUBEY (2010) relataram a contaminação de reservatórios de água por oocistos eliminados por felídeos selvagens, assim a ausência de gatos domésticos mas a presença de felídeos selvagens pode ser considerada um fator de risco associado a transmissão de toxoplasmose.

3.2.2 Aspectos Relacionados ao Genótipos do *T. gondii*

O *toxoplasma gondii* possui uma ampla gama de hospedeiros e presença de fase sexual no ciclo biológico, apresentando uma baixa variação genética (YAI, 2007).

Isolados de *T. gondii* de humanos e animais na Europa e América do Norte e África foram agrupados em três linhagens genéticas, designadas tipos I, II, III, sendo considerados clonais e com baixa diversidade genética (AJZENBERG et al., 2002; SU et al., 2010).

A linhagem genética de *T.gondii* classificada como genótipo tipo I é normalmente associada a casos de toxoplasmose aguda, podendo provocar lesões oculares (VALLOCHI et al., 2005). O genótipo tipo II é predominantemente encontrado em pacientes imunossuprimidos e em casos de toxoplasmose congênita. O genótipo tipo II é comumente encontradas nos animais (CARNEIRO, 2014).

PENA et al. (2008) realizaram o isolamento e bioensaio em camundongos no Brasil denominando de BrI, BrII, BrIII e BrIV, demonstraram que o isolamento do tipo BrI é considerado virulento, o tipo BrII não virulento e os tipos BrIII e BrIV são considerados virulentos intermediários.

3.2.3 Manifestações Clínicas

Os maiores problemas clínicos da toxoplasmose referem-se à infecção primária durante a gestação que pode resultar em infecção congênita do feto, levando a quadros neurológicos e oculares. Em animais, podem ocorrer abortamento e mortalidade neonatal causando perdas econômicas (TENTER et al., 2000; CARNEIRO et al; 2014).

Uma porcentagem variável de animais sadios, e também humanos, apresentam anticorpos anti-*T. gondii*. Contudo, os marsupiais australianos e

primatas neotropicais, além de serem altamente suscetíveis, raramente sobrevivem a esta doença, sendo desconhecida a razão desta alta suscetibilidade (EPIPHANIO et al., 2003).

O tipo e a gravidade da doença clínica com infecções do *T. gondii* dependem do grau e localização de tecido lesionado. A necrose celular é causada pela multiplicação do *Toxoplasma* intracelular. Em infecções adquiridas após a ingestão de cistos teciduais ou oocistos, os sinais clínicos iniciais são causados pela necrose do intestino e órgãos linfoides causada pelos taquizoítos. O cérebro, fígado, pulmões, músculo esquelético, e os olhos são locais comuns de replicação inicial e persistência da infecção crônica (DUBEY e LAPPIN, 2012).

A imunossupressão causa a susceptibilidade ao *T. gondii* devido a sua proliferação como um patógeno oportunista. Sinais clínicos incluem febre persistente ou intermitente, anorexia, perda de peso, icterícia causada por hepatite, vômitos, diarreia, ascite, esplenomegalia, pneumonia, hepatomegalia (FIALHO et al, 2009).

3.2.4. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é necessário e importante pois a doença é uma zoonose e pode se manifestar nas mais variadas formas e situações e com quadros clínicos que facilmente podem ser confundidos com outras doenças infecciosas, como leptospirose, brucelose, clamidiose, sendo disseminada em animais domésticos (VIDOTTO et al, 1990).

Métodos laboratoriais para o diagnóstico desta doença incluem isolamento do agente e os testes imunológicos. Sendo os testes sorológicos mais utilizados (CANTOS et al, 2000).

Diversas técnicas sorológicas têm sido empregadas no diagnóstico da toxoplasmose com grande eficiência, a técnica de Sabin-Feldman ou teste do corante (TC), a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a hemaglutinação indireta (HAI), a fixação de complemento (FC), o ensaio imunoenzimático indireto (ELISA), e o teste de aglutinação direta modificada (MAD) (UCHÔA et al, 1999; CAMOSSI et al.,2010).

A técnica de Sabin-Feldman, também conhecida como teste do corante ou “dye test” (TC) possui alta sensibilidade e especificidade, portanto deixou de

ser realizada rotineiramente em virtude da complexidade da técnica e por necessitar de parasitos vivos para sua realização, trazendo riscos de infecção aos técnicos (SHARMA, 1990; SCHMIDT e DUNCAN, 1999).

A técnica utilizada para a detecção de anticorpos anti- *T. gondii* nas diferentes espécies animais, é a Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI) (VIDOTTO et al., 1990; GARCIA et al., 1999), porém requer reagentes espécie-específicos, microscópio para fluorescência e treinamento técnico para a leitura das lâminas (COLA et al., 2010).

A hemaglutinação indireta (HAI) é um excelente método de diagnóstico, devido à sua alta sensibilidade, simplicidade de execução e baixo custo (FIALHO e ARAÚJO, 2002). O teste ELISA é um método potencialmente útil para o diagnóstico precoce de infecção aguda, apresentando boa sensibilidade e especificidade, mas, assim como a RIFI, necessita de conjugado espécie específico (SILVA, 2007). Remington et al (2001) afirmam que a técnica de fixação de complemento (FC) é interpretada de forma semelhante à RIFI e ELISA, porém os títulos alcançados são bem menores, pois os anticorpos testados aparecem mais tardiamente

A técnica de aglutinação direta modificada (MAD), utilizando taquizoítos inativados pela formalina, para a detecção de IgG têm sido amplamente utilizada em muitas espécies de animais domésticos e silvestres, sendo muito sensível, específica e de fácil realização (SILVA, 2006), mostrando como vantagem a não necessidade de conjugado espécie específico (SILVA, 2006). Detecta-se apenas IgG, porque o 2-mercaptoetanol (2ME), utilizado no teste, inativa as IgM específicas e não específicas. No entanto, o teste pode ser realizado com a utilização de acetona ou formalina como inativadores dos taquizoítos, permitindo assim diferenciar as IgGs de fase aguda e crônica da infecção (UCHOA, 1999; SILVA, 2006).

Segundo Silva et al (2002), não foi constatada diferença significativa entre a RIFI e a MAD na detecção de anticorpos anti-*T.gondii* e os autores sugerem a utilização do MAD para triagem e titulação de anticorpos anti- *T.gondii* em soros de animais, uma vez que pode ser aplicada às diferentes espécies animais com resultados semelhantes aos obtidos na reação de imunofluorescência indireta, prescindindo de reagentes espécie-específicos e equipamentos sofisticados.

3.2.5 Prevenção e Controle

O controle da eliminação de oocistos por felídeos reduziria a transmissão da infecção para seres humanos e animais. A disseminação de oocistos de *T. gondii* em jardins zoológicos pode ser prevenida com alguns cuidados básicos, mantendo felídeos separados dos outros animais, particularmente marsupiais e macacos do novo mundo (SILVA et al.,2007).

Silva et al. (2007) concluíram que a maneira mais eficaz de reduzir o risco de exposição dos felídeos neotropicais de cativeiro ao *T. gondii*, conseqüentemente, a redução da contaminação ambiental por oocistos, consiste em alimentar esses animais apenas com carne previamente congelada à -12°C por um período superior a sete dias.

A toxoplasmose humana é prevenida pela cocção adequada dos alimentos cárneos (67°C), pela lavagem em água corrente das frutas e verduras, evitar a ingestão de carne crua ou mal cozida (JONES et al, 2006). As mãos devem ser lavadas após manusear carnes cruas, pois sabão, água, álcool e desinfetantes químicos inativarão bradizoítos e cistos teciduais remanescentes nas mãos após a manipulação destes alimentos (DUBEY, 1994; FRENKEL, 2000).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento Experimental

Para estimar o número de animais necessários para o experimento (n) utilizou-se o programa OpenEpi Version 3. Considerou como referência de 50% com margem de erro de 10% e intervalo de confiança de 95%. Dessa forma obteve um número de 90 animais, ajustando-se o número final para 108 animais.

As análises estatísticas foram realizadas no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu, SP.

4.2. Animais

No presente estudo foram utilizadas amostras de sangue de 108 quatis (*Nasua nasua*) de vida livre, jovens e adultos, machos vasectomizados (n=48) e fêmeas castradas (n=60), pesando entre 2 a 6,5kg, coletadas durante procedimentos de rotina do Parque Ecológico do Tietê, no município de São Paulo (23° 29' 46" S 46° 31' 10" O) localizado na zona leste da cidade de São Paulo, divisa com o Município de Guarulhos.

O parque foi criado pelo Decreto Estadual 7.868 de 30 de abril de 1976, inaugurado em 14 de março de 1982. O parque ocupa uma área de 14 milhões de m², essas dimensões dão-lhe configuração metropolitana de alta importância, devido a essa dimensão estar no sentido leste-oeste sendo o eixo de desenvolvimento de São Paulo. Assim, o caracteriza como parque urbano, onde a população possa usufruir plenamente essa faixa aberta.

O espaço ainda conta com um Centro de Educação Ambiental, o Museu do Tietê e um Centro de Recepção de Animais Silvestres, que atualmente abriga cerca de dois mil animais, que foram doados pela população ou apreendidos pelo Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais) e pela Polícia Florestal.

O Parque Ecológico do Tietê é considerado uma das grandes reservas ambientais no Estado e parte de sua área também serve como bacia de acumulação de água, para que não haja enchentes na Marginal Tietê.

O parque realiza passeios com os visitantes, que os orientam sobre flora e a fauna local, preservação do meio ambiente e também podem observar diversas espécies de pássaros e animais como: quatis, macacos, cotias, catetos, antas e capivaras mantidos em vida livre pelo parque (Figura 2).



Figura 2: Visitantes do Parque Ecológico do Tietê em contato com quatis (<https://www.youtube.com/watch?v=orwMjFYJPGk>)

Os animais são alimentados pela administração do parque com alimentação correta a base de frutas e legumes, como vivem livres acabam se alimentando de frutos de árvores (Figura 3), e alimentos impróprios oferecidos pelos visitantes, correndo riscos de acidentes (Figura 2 e 4)



Figura 3: Quati solto pelo parque se alimentando.
(<https://www.youtube.com/watch?v=nLPEGtYXR-o>)



Figura 4: Visitante do parque correndo risco de acidente com quati (<https://www.youtube.com/watch?v=orwMjFYJPGk>)

Após a coleta de sangue, o mesmo foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, o soro acondicionado em microtubos devidamente identificado e mantidos em temperatura a -80°C . Após esse procedimento as amostras foram transportadas e armazenadas no Laboratório de Pesquisa em Zoonoses da

Faculdade de Medicina e Zootecnia UNESP- Botucatu- SP também a -80°C até o momento do exame.

Este projeto foi autorizado para atividades com finalidades científicas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade- ICMBio, pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade- SISBIO, de acordo com o artigo 28 da Instrução Normativa nº 03/2014 pelo código de autenticação 46892224. Também foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP Campus de Botucatu, pelo protocolo nº 199/2014.

4.3. PROVAS SOROLÓGICAS

4.3.1 Soroaglutinação Microscópica (SAM)

As amostras de soro foram testadas para anticorpos anti-*Leptospira* spp. pela técnica de Soroaglutinação Microscópica, segundo as normas do Ministério da Saúde (MINISTERIO DA SAUDE, 1995). A análise sorológica foi utilizada principalmente como prova de triagem, e a seguir realizou-se a titulação para avaliar a extinção do título sorológico. Foram utilizados 31 sorovares como antígenos, na prova de soroaglutinação microscópica (SAM) (Tabela 1).

Tabela 1- Relação de sorovares de *Leptospira* spp. utilizados no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ), UNESP Botucatu- São Paulo, 2015

SOROGRUPO	SOROVAR	SOROGRUPO	SOROVAR
1 Australis	1A Australis	12 Javanica	12 Javanica
	1B Bratislava	13 Panama	13 Panama
2 Autumnalis	2A Autumnalis	14 Pomona	14 Pomona
	2B Butembo	15 Pyrogenes	Pyrogenes
3 Ballum	3 Castellonis	16 Sejroe	16A Hardjo
4 Bataviae	4A Bataviae		16B Wolffi
	4B Brasiliensis	17 Shermani	17 Shermani
5 Canicola	5 Canicola		18 Tarassovi
6 Celedoni	6B Whitcombi	Andamana	19 Andamana
7 Cynopteri	7 Cynopteri	Não determinado	21 Patoc
8 Djasiman	8A Djasiman	Serjoe	22 Guaricura
	8B Sentot	P	P Hardjo prajitno
9 Gryppotyphosa	9 Gryppotyphosa	M	M Hardjo minis
10 Hebdomadis	10 Hebdomadis	C	C Hardjo CTG
11 Icterohaemorrhagiae	11A Copenhageni	B	B Hardjo bovis
	11B Icterohaemorrhagiae		

Para a prova de triagem, cada amostra foi diluída em solução salina tamponada de fosfatos (SST) pH 7,6 na diluição 1:50, adicionando-se 100 µL do soro a 4,9 mL da solução salina tamponada de fosfatos em tubos de ensaio de 10 mL. A seguir pipetou-se 50 µL do soro diluído em microplaca de fundo chato, dispostas horizontalmente dispostos em 25 orifícios.

Em seguida 50 µL de cada um dos 31 sorovares foram adicionados em posição vertical da microplaca, totalizando 100 µL de material em cada orifício. Para a amostra controle adicionou-se 50 µL SST pH 7,6 e 50 µL do antígeno, utilizado como controle negativo.

As placas foram tampadas, levemente agitadas por 20 segundos e incubadas em estufa seca a 37°C durante uma hora.

Após a incubação, uma gota de cada orifício foi transferida para uma lâmina lisa de vidro com auxílio de alça bacteriológica, e a leitura realizada em microscopia óptica de campo escuro, com aumento de 100X. Foram consideradas positivas amostras que apresentaram 50% ou mais de leptospiras aglutinadas.

Posteriormente realizou-se uma nova análise das amostras positivas, com o objetivo de identificar seu título de anticorpos para cada sorovar reagente. Na placa de fundo chato foi disposto fileiras horizontais contendo no primeiro poço controle 50 µL das amostras previamente diluídas a 1:50, e em outros cinco orifícios adicionou-se 25 µL de SST pH 7,6 correspondentes a titulação de um determinado sorovar (títulos 100 UA, 200 UA, 400 UA, 800 UA, 1600 UA).

Realizou-se a diluição na razão de dois, transferindo-se 25µL do primeiro orifício para o segundo, homogeneizando-se com micropipeta, e transferindo 25 µL do segundo para o terceiro orifício, procedendo-se assim por diante o quarto e quinto orifícios, obtendo-se as diluições 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600, equivalendo-se aos títulos 100 UA, 200 UA, 400 UA, 800 UA, 1600 UA.

Por final foi pipetado 25 µL do sorovar positivo correspondente a cada poço da respectiva fileira e também do poço controle. As placas foram incubadas em estufa seca a 37°C durante uma hora.

Foi considerado como título a maior diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiros em relação ao controle.

4.3.2 Produção de antígeno para o método de aglutinação direta modificada (MAD)

Para a determinação de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii*, utilizou-se como antígeno o fluído peritoneal de camundongos previamente infectados com *T.gondii*, cepa RH, preparado a partir do homogeneizado com igual volume de células de sarcoma TG180, obtidas por passagens sucessivas em camundongos albinos Swiss com idade entre 30 a 40 dias previamente inoculados pela via intraperitoneal com 0,2mL, a cada 12 dias. A suspensão de sarcoma e taquizoítos foi inoculada via intraperitoneal em camundongos, e após 48 horas, procedeu-se o lavado peritoneal com 10mL de SST pH 7.2. Os fluídos peritoneais ricos em células parasitadas foram tratados com solução de tripsina a 0,05% para rompimento das células e liberação dos parasitos. A suspensão de taquizoítos foi fixada em solução de formalina a 6% por 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente a formalina foi removida por meio de centrifugações sucessivas a 1200 x g por 10 minutos, sendo o antígeno ressuspendido em tampão borato pH 8.7 (DESMONTS e REMINGTON, 1980).

4.3.3 Método de Aglutinação direta Modificada (MAD)

Os soros foram diluídos em SST pH 7.2 nas diluições 1:25; 1:50; 1:100; 1:200 e 1:400, sendo transferidos 25µL de cada diluição para microplaca com fundo em V, adicionando-se então 25µL de 2-mercaptoetanol 0,1M e 50 µL de antígeno por cavidade da microplaca. As placas foram incubadas a temperatura de 37°C por 16horas, sendo consideradas positivas aquelas diluições dos soros onde se formava uma película que cobria pelo menos 50% da cavidade, e negativas quando formava botão ou anel no fundo da cavidade (Figura 5).



Figura 5- Reação de aglutinação em amostras de soro. 1) Controle sabidamente negativo, 2) Controle sabidamente positivo. Botucatu, 2015.

5. RESULTADOS

No teste sorológico para os anticorpos anti- *Leptospira* spp. realizado pelo teste de soroaglutinação microscópica, das 108 amostras de soro de quati (*Nasua nasua*), 88,89% (96/108) foram negativas e 11,11% (12/108) foram positivas (IC 95%= 6,0- 19%) (Tabela 2).

A frequência dos sorovares reagentes detectados em 12 quatis soropositivos foram Butembo 16,67% (2/12); Whitcombi 8,33% (1/12); Sentot 8,33% (1/12); Gryppotyphosa 8,33% (1/12); Panama 8,33% (1/12); Hardjo bovis 8,33% (1/12); Hardjo CTG 8,33% (1/12); Hardjo prajitno 33,33% (4/12) (Tabela 3)

A distribuição dos títulos foi 100 UA 41,67% (5/12); 200 UA 41,67% (5/12); 400 UA 16,67 (2/12) (Tabela 4)

Tabela 2- Resposta sorológica em 108 quatis (*Nasua nasua*) pelo Teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para Leptospirose. Botucatu-SP, 2015.

RESULTADO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM %	INTERVALO DE CONFIANÇA (IC 95 %)
Negativo	96	88,89%	
Positivo	12	11,11%	[0,06- 0,19%]
TOTAL	108	100%	

Tabela 3- Sorovares reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em 12 quatis (*Nasua nasua*). Botucatu- SP, 2015.

SOROVAR	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM%
Butembo	2	16,33%
Whitcombi	1	8,33%
Sentot	1	8,33%
Gryppotyphosa	1	8,33%
Panama	1	8,33%
Hardjo bovis	1	8,33%
Hardjo CTG	1	8,33%
Hardjo prajitno	4	33,33%
TOTAL	12	100%

Tabela 4- Título de Anticorpos para *Leptospira* spp. detectados em 12 quatis (*Nasua nasua*) avaliados pela prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Botucatu- SP. 2015.

Título	Frequência	Porcentagem
100	5	41,67%
200	5	41,67%
400	2	16,67%
TOTAL	12	100%

Para a pesquisa de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* utilizou-se o teste de Aglutinação direta Modificada (MAD) (ponto de corte $\geq 1:25$), das 108 amostras sorológicas de quatis, 18 (16,67%) foram soropositivos para os anticorpos anti- *T.gondii* e 90 (83,33%) negativos (IC 95% = 0,09-0,23%) (Tabela 5). A distribuição dos títulos foi 25 UI 44,44% (8/18); 50 UI 16,67% (5/18); 100 UI 16,67% (3/18); 200 UI 5,56% (1/18); 400 UI 16,67% (3/18) (Tabela 6)

Tabela 5- Resposta sorológica em 108 quatis (*Nasua nasua*) pelo Teste de Aglutinação Direta Modificada (MAD) para Toxoplasmose. Botucatu- SP, 2015.

RESULTADO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM %	INTERVALO DE CONFIANÇA (IC 95%)
Negativo	90	83,33%	
Positivo	18	16,67%	[0,09- 0,23]
TOTAL	108	100%	

Tabela 6- Título de Anticorpos para *Toxoplasma gondii* apresentado em 18 quatis (*Nasua nasua*) avaliados pela prova de Aglutinação Direta Modificada (MAD) Botucatu- SP. 2015.

Título	Frequência	Porcentagem
25	8	44,44%
50	3	16,67%
100	3	16,67%
200	1	5,56%
400	3	16,67%
TOTAL	18	100%

6. DISCUSSÃO

Parques zoológicos são locais onde pessoas podem se infectar visto que animais ali albergados podem atuar como reservatórios e/ ou fontes de infecção de doenças zoonóticas, disseminando agentes etiológicos entre animais selvagens, sinantrópicos, funcionários e visitantes (CORRÊA et al., 2006; SILVA et al., 2007).

No Brasil estudos em zoológicos sobre zoonoses e a participação do quati (*Nasua nasua*) na cadeia epidemiológica da Toxoplasmose e Leptospirose são escassos.

A resposta sorológica em 108 quatis (*Nasua nasua*) pelo teste de soroaglutinação Microscópica para Leptospirose foi de 11,11% (12/108) das amostras testadas. Corrêa et al. (2004) realizaram inquérito sorológico em 302 animais do zoológico da cidade de São Paulo e a frequência de animais soropositivos foi de 19,5%, resultado superior ao do presente trabalho. Por outro lado, a grande maioria dos animais soropositivos foram felinos, e dentre estes, quatro jaguatiricas, sendo um deles reagente para o sorovar *Icterohaemorrhagiae*.

PAIXÃO et al. (2011) relataram a soroprevalência para Leptospirose em animais selvagens de vida livre procedentes do Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira- SP, avaliando que os animais foram reagentes para *Australis* (86%); *Cynopteri* (55%); *Hardjo miniswajezak* (77,7%); *Autumnalis* (66%); *Hardjo*, *Shermani*, *Wolffi* e *Sentot* (44,4%); *Butembo*, *Gryppotyphosa*, *Djasiman*, *Hebdomadis*, *Copenhageni* *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Patoc* e *Tarassovi* (22,2%); *Hardjo prajitno* e *Castellonis* (33,3%); *Pyrogenes*, *Hardjobovis*, *Whitcombi*, *HardjoCTG Andamana*, *Javanica*, *Panamá*, *Bataviae* e *Pomona* (11,1%), contanto não avaliaram sorovares reagentes para quatis.

Devido ao estudo de PAIXÃO et al. (2011) não terem avaliado sorovares reagentes para quatis, este estudo corrobora com PAIXÃO et al.(2011) devido aos sorovares reagentes em 12 quatis soropositivo foram *Butembo* 16,67% (2/12); *Whitcombi* 8,33% (1/12); *Sentot* 8,33% (1/12); *Gryppotyphosa* 8,33% (1/12); *Panama* 8,33% (1/12); *Hardjo bovis* 8,33% (1/12); *Hardjo ctg* 8,33%

(1/12); Hardjo prajitno 33,33%, os mesmos foram encontrados em animais silvestres de vida livre por PAIXAO et al., 2011.

GIRIO et al. (2004) não encontraram reagente para *Leptospira* spp. entre nove quatis de vida livre, no entanto, estes animais podem estar infectados sem apresentar resposta imune humoral, com anticorpos detectáveis. No presente estudo 12 quatis de vida livre foram reagentes para *Leptospira* spp. o que confirma que o agente etiológico se encontra no ecossistema estudado, assim como os riscos à saúde pública.

PIMENTEL et al. (2009) avaliaram 32 mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju- Sergipe, Brasil, para anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti- *Toxoplasma gondii* , sendo que dois quatis apresentaram anticorpos para *Toxoplasma gondii* com título 50 UI, mas não reagiram para *Leptospira* spp.

LENHARO et al. (2012) realizaram avaliação sorológica para Leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do Parque Zoológico Municipal de Bauru, sendo 60 animais (83,3%) reagentes a prova SAM, e também houve resposta aos sorovares Butembo, Wolffi, Hardjo CTG, Panama. Estes sorovares foram encontrados também em roedores sinantrópicos.

A múltipla etiologia das leptospiroses, e o papel de reservatórios dos animais, juntamente com a interação com o meio ambiente, demonstra a necessidade de estudos soroepidemiológicos para se entender a etioepidemiologia das leptospiroses.

Não foi possível a determinação das vias de transmissão e fontes de infecção relacionada a presença de quatis soropositivos para anticorpo anti- *Toxoplasma gondii* e anti- *Leptospira* spp. no Parque Ecológico do Tietê SP.

No presente estudo observou-se a ocorrência de 16,67% (18/108) quatis (*Nasua nasua*) soropositivos para anticorpos anti- *Toxoplasma gondii*. Devido os quatis serem de vida livre e terem acesso a toda área do parque ecológico facilita a infecção por possível ingestão de oocistos de *T.gondii* presentes no ambiente.

Na literatura faltam trabalhos com toxoplasmose nessa espécie estudada para que se possa comparar com os resultados obtidos no presente estudo.

7. CONCLUSÃO

A toxoplasmose e a leptospirose são doenças zoonóticas que acometem animais domésticos e selvagens. Inquérito soroepidemiológico em quatis (*Nasua nasua*) são importantes para a vigilância e controle dessas doenças de importância em saúde pública.

Os quatis possuem hábitos sinantrópicos representando risco à saúde humana pela proximidade com o ambiente urbano.

O inquérito sorológico realizado indicou que quatis (*Nasua nasua*) estão infectados por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. no Parque Ecológico do Tietê- SP. Como os quatis são mantidos em vida livre pelo parque, eles podem ter sido contaminados devido a prática do carnivorismo, se alimentando de ratos, pintinhos, lagartos e rãs. Outra hipótese de infecção nesses animais é pela ingestão de água contaminada do rio que banha o Parque Ecológico do Tietê.

Estes animais possuem estreito contato com humanos e isto pode representa perigo de doenças zoonóticas. Novos estudos se fazem necessários nessa espécie para melhor avaliação.

8. REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. 2003. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales: **Bacteriosis y Micosis**. vol.1. 3ª ed. Publicación Científica no.580, OPS, Washington, p.175-185, 2003.

ADLER, B.; DE LA PENA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Vet. Microbiol.**, v.140, p.287-296, 2010.

AJZENBERG, D; COGNÉ, N; PARIS, L.; BESSIÉRES, M.H.; THULLIEZ, P.; FILISETTI, D.; PELLOUX, H.; MARTY, P.; DARDÉ, M.L. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis and correlation with clinical findings. **Journal of Infectious Diseases**, v.186, n.5, p.684-689, 2000

ANDRADE, M.C.R; COELHO, J.M.C.O; AMENDOEIRA, M.R.R; VICENTE, R.T; CARDOSO, C.V.P, FERREIRA, P.C.B; MARCHECSKY, R.S. Toxoplasmose em macacos-esquilo: Análise histológica e imunohistoquímica. **Ciência Rural** v.37, n.6, p. 1724-1727, 2007.

AKUZAWA, M., et al, S. PCR for detecting *Leptospira* in canine urine and its clinical applications. **Journal Japan Veterinary**, v.54, n. 4, 2001.

BHARTI, A.R; NALLY, J.E.; RICARDI, J.N. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Disease**, v.3, p. 757-71, 2003.

BRASIL, A.W.L; PERENTONI, R.N; FARIAS, R.C; NERY, T.F.L; VASCONCELLOS, S.A; AZEVEDO, S.S. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais mantidos em cativeiro na Paraíba. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2945-2950, 2013.

BISCOLA, N.P; FORNAZARI, F; SAAD, E; RICHINI- PEREIRA, V.B; CAMPAGNER, M.V; LANGONI, H; BARRAVIEIRA, B; FERREIRA JUNIOR, R.S. Serological investigation and PCR in detection of pathogenic leptospires in snakes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n.2, p. 806- 811, 2011.

BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.69, n.3, p. 607- 623, 2000.

BRENNER, D.J., KAUFMANN, A.F., SULZER, K.R., STEIGERWALT, A.G., ROGERS, F.C., WWYANT, R.S. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. **International Journal of Systematic Bacteriology**. n.49, p.839–858, 1999.

BROWN, C. A.; et al.; *Leptospira interrogans* serovar grippityphosa infection in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 209, n. 7.1996.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; ARAÚJO, F.A.P.; GENNARI, S.M. *Toxoplasma gondii* in small neotropical wild felids. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.50, n.1

CANTOS, G. A; PRANDO, M. D; SIQUEIRA, M.V; TEIXEIRA, R.M. Toxoplasmose: Ocorrência de Anticorpos Anti- *Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.46, n.4, p. 335-341, 2000.

CARNEIRO, B.F; MIRANDA, M.M; SILVEIRA NETO, O.J; LINHARES, G.F.C; ARAÚJO, L.B.M. Inquérito sorológico para *Toxoplasma gondii* em mamíferos neotropicais mantidos no centro de triagem de animais silvestres, Goiânia, Goiás. **Revista de Patologia Tropical**. v.43, n.1, p. 69-78, 2014.

CENCI-GOGA, B.T., ROSSITTO, P.V., SECHI, P., McCRINDLE, C.M.E., CULLOR, J.S. Toxoplasma in animals, food, and humans: an old parasite of new concern. **Foodborne Pathogens and Disease**,. v.8, n.7, p.751-762, 2011.

COLA, G.A.; GARCIA, J.L; COSTA, L.; RUFFOLO, B.; NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do teste de aglutinação modificado na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ratos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 717-722, 2010.

CAMOSSO, L. G.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. **Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária**, v. 62, n. 2, p. 484-488, 2010.

CORRÊA, S. H. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z.; 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. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 3, p. 189-193, 2004.

CORRÊA, S. H. R. Leptospirose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, p. 736-741, 2006.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, v.11, p.562, 1980.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.205, n.11, p.1593- 1598, 1994.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**. v.28, p. 1019–1024, 1998.

DUBEY, J.P. The History of *Toxoplasma gondii*- the first 100 years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Lawrence, v.55, n.6, p. 467- 475, 2008

DUBEY, J.P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**. v. 39, p.877-882, 2009.

DUBEY, J.P. **Toxoplasmoses of animals and humans**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 338p. 2010.

DUBEY, J.P; LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis and Neosporosis. In: GREENE, C.E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4ed, Elsevier, Sta. Louis, Missouri, p.806-824, 2012.

EPIPHANIO, S; SINHORINI, I.L; CATÃO- DIAS, J.L. Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. **Journal of Comparative Pathology**. v.129, p196-204, 2003

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

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C. **Leptospira and leptospirosis**. 3. ed. Melbourne: MediSei, 1999.

FELT, S.A.; WASFY, M.O.; EL-TRASS, W.F.; SAMIR, A.; RAHAMAN, B.A.; BOSHRA, M.; PARKER, T.M.; HATEM, M.E.; EL-BASSIOUNY, A.A.; MURRAY, C.K.; PIMENTEL, G. Cross species surveillance of *Leptospira* in domestic and peri-domestic animals in Mahalla city, Gharbeya Governorate, Egypt. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.84, n.3, p.420-425, 2011.

FERGUSON, D.J.P. *Toxoplasma gondii* 1908- 2008 Homage to Nicole Menceaux and Splendore. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 104, n.2, Rio de Janeiro, p. 2009.

FERREIRA, J.R.V; NAVARRO, I.T. Prevalência da Infecção por *Toxoplasma gondii* em Animais Selvagens- Revisão. **Semina: Ciências Agrárias , Londrina**. v.15, n.1, p.94-100, 1994.

FIALHO, C.G.; ARAUJO, F.A.P. Comparação entre os testes de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta para a detecção de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em soros de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.30, p.185-189, 2002.

FIALHO, C.G; TEIXEIRA, M.C; ARAUJO, F.A.P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.37, n.1, p. 1-23, 2009.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. Tratado de Infectologia. Rio de Janeiro: Atheneu, p.1290-1305, 2000.

GARCIA, J.L; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e equinos e sua correlação com

humanos, felinos e caninos oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.1, p. 91-97, 1999.

GIRIO, R.J.S.; PEREIRA, F.L.G.; FILHO, M.M.; MATHIAS, L.A.; HERREIRA, R.C.P.; ALESSI, A.C.; GIRIO, T.M.S. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil. Utilização da técnica de imuno-histoquímica para a detecção do agente. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.165-169, 2004.

GRAVEKAMP, C; VAN DE KEMP, H; FRANZEN, M; CAR RING TON, D; SCHOONE, G. J; VAN EYS, G.J; EVERARD, C.O; HARTSKEERL, R.A; TERPSTRA, W.J. Detection of seven species of pathogenic leptospire by PCR using two sets of primers. **Journal of General Microbiology**.

GREENE, C.E.; RUPPRECHT, C.E. Rabies and other Lyssavirus Infections. In: Greene, C.E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Saunders, p.167-186, 2006.

GREENE, C.E; SYKES, J.E; MOORE, G.E; GOLDSTEIN, R.E; SCHULTZ, R.D. Leptospirosis. **Infectious diseases of the dog and cat**, Elsevier, St. Louis, Missouri, 4 ed, cap.42, p. 431- 447, 2012.

GUIMARÃES, F.R.; SADDI, T.M.; CARDOSO, J.R.; ARAÚJO, L.B.M.; ARAÚJO, E.G. Estudo de Patógenos de Potencial Zoonótico em Procionídeos. **Revista de Patologia Tropical**. v.41, n.3, 2012.

JONES, J.L; DUBEY, J.P. Waterborne toxoplasmosis recente developments. **Experimental Parasitology**, v.124, p.10-25, 2010.

JONES, J.L.; MUCCIOLI, C.; BELFORT JUNIOR, R.; HOLLAND, G.N.; ROBERTS, J.M.; SILVEIRA, C. Recently Acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. **Emerging infectious Diseases**, v.12,n.4, p. 582- 587, 2006.

JONES, T.C; HUNT, R.D; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6ed, Manole, p. 477- 483, 2001.

JUNGE, R.E.; BAUMAN, K.; KING, M.; GOMPPER, M.E. Aserologic assessment of exposure to viral pathogens and *Leptospira* in an urban raccoon (*Procyon lotor*) population inhabiting a large zoological park. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.38, n.1, p.18-26, 2007.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. Parasitologia Humana. 11ed. São Paulo: Atheu, cap.18, p.163-172, 2005.

LANGONI, H; KAWAGUCHI, M.F; OSHIKA, J.C; DA SILVA, R.C; TEIXEIRA, C.R. *Leptospira* spp. antibodies in captive coatis (*Nasua nasua* Storr, 1780) (Carnivora: Procyonidae). **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, vol.15, n.4, Botucatu 2009

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clinical. Microbiology Reviews.**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LENHARO, D.K; SANTIAGO, M.E.B; LUCHEIS. Avaliação sorológica para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do Parque Zoológico Municipal de Bauru, SP. **Arquivo Instituto de Biologia**. São Paulo, v.79, n.3, p.333-341, 2012.

LILENBAUM, W.; MONTEIRO, R.V.; RISTOW, P.; FRAGUAS, S.; CARDOSO V.S.; FEDULLO, L.P.L. Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zoo, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.73, p.319-321, 2002.

LUFT, B. J.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis of the central nervous system. In: REMINGTON, J. S.; SWARTZ, M. N. **Current Clinical Topics in Infectious Diseases**. New York: McGraw-Hill. v. 6, n.4 , p. 315-358, 1985.

LUNA- ALVAREZ, M; MORALES, L.P.C; TORRES, BARRANCA, J.I; GUAL, S.F. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la ciudad de México. **Veterinária México**.v.27, n.3, p.229-234, 1996.

LYONS, R.E; McLEOAD, R; ROBERTS, C.W. *Toxoplasma gondii* Tachyzoite-Bradzoite interconversion. **Trends in Parasitology**. v.18, n. 5, p.198-201, 2002.

MELO, L.S.S.; CASTRO, M.B.; LEITE, R.C.; MOREIRA, E.C.; MELO, C.B. Principais aspectos da infecção por *Leptospira* sp. em ovinos. **Ciencia. Rural**, v.40, n.5, p.1235-1241, 2010.

MEIRELES, L. R. Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo. **Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo**. São Paulo-SP, p.141, 2001.

MILLÁN, J.; CANDELA, M.G.; LÓPEZ-BAO, J.V.; PEREIRA, M.; JIMÉNEZ, M.A.; LEÓN-VISCAÍNO, L. Leptospirosis in wild and domestic carnivores in natural areas in Andalusia, Spain. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.9, n.5, p.549-554, 2009.

MINETTE, H.P. Leptospirosis in poikilothermic vertebrates. A review. **The International Journal of Zoonoses**, v.10, n.2, p.111-121, 1983.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2 ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, p.98, 1995.

NELSON, RW., COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2 ed, Guanabara Koogan, 2001.

PAIXÃO, M.S., ALVES, M.F., PIRAJÁ, G.V., ALVES, M.L., FERRERIRA, A.G., TENÓRIO, M.S., BUZETTI, W.A.S., LUCHEIS, S.B. Soroprevalência para Leptospirose em animais silvestres de vida livre procedentes do Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira SP. **Biológico**, v.73, n.2, p.200-213, 2011.

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

PIMENTEL, J.S; GENNARI, S.M; DUBEY, J.P; MARVULO, M.F.V; VASCONCELLOS, S.A; MORAIS, Z.M; SILVA, J.C.R; EVÊNCIA, J.N. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.29, p.1009-1014, 2009

QUINN, P.J; MARKEY, B.K; CARTER, M.E; DONNELLY, W.J.C; LEONARD, F.C; MAGUIRE, D. Espiroquetas. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. São Paulo: Artmed, p.179-183, 2005.

RAHELINIRINA, S.; LEON, A.; HARSTSKEERL, R.A.; SERTOUR, N.; AHMED, A.; RAHARIMANANA, C.; FERQUEL, E.; GARNIER, M.; CHARTIER, L.; DUPLANTIER, J.; RAHALISON, L.; CORNET, M. First isolation and direct evidence for the existence of large small-mammal reservoir of *Leptospira* sp. in Madagascar. **PLoS One**, v.5, n.11, p.e14111, 2010.

REMINGTON, J. S.; MCLEOD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: REMINGTON, J. S.; KLEIN, J. O. (Eds.). **Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant**. 5º Ed. Philadelphia: WB Saunders, p. 205-346, 2001.

ROMERO, E.C; BERNARDO, C.C; YASUDA, P.H. Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in Sao Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.45, p.245-248, 2003.

ROMERO, M.H; ASTUDILLO, M; SÁNCHEZ, J.A; GONZÁLEZ, L.M; VARELA, N. Anticuerpos contra *Leptospira* sp. en primates neotropicales y trabajadores de un zoológico colombiano. **Revista de. Salud Publica**. vol.13, n. 5, p.814-823, 2011

SARKAR, V; NASCIMENTO, S.F; BARBOSA R; MARTINS R, NUEVO, H; KALAFANOS, I; GRUNSTEIN I; FLANNERY B; DIAS J; RILEY, L.W; REIS, M.G; KO, A.I. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during in urban epidemic. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. n. 5, vol. 66, p.605-610, 2002

SCARCELLI, E; PIATTI, R.M; FEDULLO, J.D.L; SIMON, FAICAL; CARDOSO, M.V; CASTRO, V; MIYASHIRO, S; GENOVEZ, E. *Leptospira* spp. Detection by polymerase chain reaction (PCR) in clinical samples of captive black- capped

capuchin monkey (*Cebus apella*). **Brazilian Journal of Microbiology**. vol.34 p.143-146, 2003.

SCHMIDT, M. I.; DUNCAN, B. B. Epidemiologia Clínica e medicina embasada em evidências. In: ROUQUAYROL, M. Z.; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia e Saúde**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Medsi, p.183-206, 1999.

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

SHARMA, S. D. Immunology of toxoplasmosis. In: DAVID, J. W. **Modern parasite biology: cellular, immunological and molecular aspects**. New York: WD Freeman, p.184-199. 1990.

SHARMA, S.P; BAIPOLEDI, E.K; NYANGE, J.F.C; TLAGAE, L. Isolation of *Toxoplasma gondii* from goats with a history of reproductive disorders and the prevalence of *Toxoplasma* and chlamydial antibodies. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. v.70, p. 65-68, 2003.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2002.

SILVA, C. S.; GÍRIO, R. J. S.; GUERRA NETO, G.; BRICH, M.; SANTANA, L. A. S.; AMÂNCIO, F. H.; MARIANI, J. R.; WESSORT, P. M. F. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais selvagens do zoológico municipal de Ribeirão Preto, estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 237-242, 2010.

SILVA, E.F.; BROD, C.S.; CERQUEIRA, G.M.; BOURSCHEIDT, D.; SEYFFERT, N.; QUEIROZ, A.; SANTOS, C.S.; KO, A.I.; DELLAGOSTIN, O.A. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. **Veterinary Microbiology**, v.121, p.144-149, 2007

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

SILVA, R.C; MACHADO, G.P; MOROSINI, C.A; CRUVINEL, C.A; LANGONI, H. Frequencia de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em macacos-prego (*Cebus apella nigritus*) de Estação Ecológica localizada no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, vol.33 no.2, 2013.

SOUZA-JÚNIOR, M. F. S.; LOBATO, Z. I. P.; LOBATO, F. C. F. et al. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado do Tocantins, 2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 3, n. 39, p. 292-294. 2006.

SMYTHE, L., ADLER, B., HARTSKEERL, R.A., GALLOWAY, R.L., TURENNE, C.Y., LEVETT, P.N. Classification of *Leptospira* genomospecies 1, 3, 4 and 5 as *Leptospira alstonii* sp. nov., *Leptospira vanthielii* sp. nov., *Leptospira terpstrae* sp. nov. and *Leptospira yanagawae* sp. nov., respectively. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n.63, p.1859–1862, 2013.

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

TEIXEIRA, R.H.F., AMBRÓSIO, S.R. Carnívora- Procyonidae (Quati, Mão-pelada e Jupará). In: **Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinária**. 2ed. v.1, p. 866- 879, 2014.

TENTER, A.M; HECKROTH, A.R; WEISS, L.M; *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**.Oxford, v.30, n.12-13, p.1217–1258, 2000.

UCHÔA, C. M. A.; DUARTE, R.; SILVA, L. V.; ALEXANDRE, G. M. C.; FERREIRA, H. G; AMENDOEIRA, M. R. R. Padronização de Ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de Imunofluorescência Indireta. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 661-669, 1999.

ULLMANN, L. S.; RAMIRO NETO, N.D.; TEIXEIRA, R.H.F. et al. Epidemiology of Leptospirosis at Sorocaba Zoo, São Paulo State, Southeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.11, p. 1174-1178, 2012.

VALLOCHI, A.L.; MUCCIOLI, C; MARTINS, M.C; SILVEIRA, C; BELFORT, J.R; RIZZO, L.V. The Genotype of *Toxoplasma gondii* Strains Causing Ocular Toxoplasmosis in Humans in Brazil. **American Journal of Ophthalmology**, Chicago, v.139, n.2, p.350-351, 2005.

VALENTINI, E. J. G.; CAPRARA, A.; SOUZA, S. L. P.; MATTARAIA, V. G. M.; GENNARI, S. M.; RODRIGUES, U. P.; FRANCISCO, F. M.; SOARES, R. M. Investigação sorológica de infecção por *Toxoplasma gondii* em colônia de macacos da espécie *Macaca mulatta*. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**,v. 71, n. 4, p. 507-510, 2004.

VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T.; GIRALDI, N.; FREIRE, R.L; MITSKA, R. Estudo epidemiológico da Toxoplasmose em suínos da região de Londrina- PR. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.11, n.1, p.53-59, 1990.

VINET, J.M. Leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**. v.14, p.527-538, 2001.

YAI, L. E. O. Caracterização biológica e genotípica de isolados de *Toxoplasma gondii* de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) do Estado de São Paulo. **Tese (Doutorado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses)** -

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
São Paulo, 138f, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.** Malta, 110p, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leptospirosis Laboratory Manual.** New Dhleli, 2007.

9. ARTIGO CIENTÍFICO



**Soroprevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti-
Toxoplasma gondii em quatis (*Nasua nasua*) procedentes do
 parque ecológico do Tietê, São Paulo- Brasil 2015¹**

Journal:	<i>Pesquisa Veterinária Brasileira</i>
Manuscript ID:	PVB-4265
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	08-Jul-2015
Complete List of Authors:	Santos, Gisele; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública Dias Neto, Ramiro; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu (FMVZ) Milanelo, Liliane; Departamento de Águas e Energia Elétrica de São Paulo, PARQUE ECOLÓGICO DO TIETÊ., Batista, Talita; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública Fornazari, Felipe; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu., Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública Lanqoni, Helio; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública Paes, Antonio Carlos; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
Keyword:	<i>Leptospira</i> spp, coati, zoonoses

SCHOLARONE[®]
 Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (*paper charge*) no valor de R\$ 1.500,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o **Título** deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) **O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos**, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). **Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores;**

c) o **ABSTRACT** deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;

d) o **RESUMO** deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. **Quadros** (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

a) A digitação deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entre-linha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo.

b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, **sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word**. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corriqueiramente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores**. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. **Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”**; a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente

com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada em **caixa alta e baixa**, com os nomes científicos em *itálico* (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à *ordenação* de seus vários elementos.

3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto).

5. Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em **negrito**) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. **Não há traços verticais, nem fundos cinzas.** Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

O artigo está de acordo com as normas da revista “**Pesquisa Veterinária Brasileira**”

Soroprevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e anti-*Toxoplasma gondii* em quatis (*Nasua nasua*) procedentes do parque ecológico do Tietê, São Paulo- Brasil, 2015¹

Gisele J. dos Santos^{2*}, Ramiro N. Dias Neto³, Liliane Milanelo⁴, Talita G.S. Batista², Felipe Fornazari², Hélio Langoni² e Antonio C.Paes²

ABSTRACT- Santos, G..J; Neto Dias, R; Milanele, L; Batista, T.G.S; Fornazari, F.; Langoni, H & Paes, A.C. 2015 [Soroprevalence of anti-*Leptospira* spp. in coatis (*Nasua nasua*) from the Ecological Park Tiete São Paulo, Brazil, 2015] Soroprevalência de *Leptospira* spp. em quatis (*Nasua nasua*) procedentes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil 2015. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior S/N, Rubião Júnior, 18618-970 - Botucatu, SP – Brasil, e-mail: gijunqueira@fmvz.unesp.br

The toxoplasmosis and leptospirosis are zoonotic diseases that affect domestic and wild animals. Seroepidemiological surveys in coatis (*Nasua nasua*) are important for information, surveillance and disease control. The objective of this study was to determine the seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* in 108 samples of serum coatis maintained in the wild, from the Ecological Park of Tietê, São Paulo, Brazil. Of the 108 animals examined, 30 were reacted to modified agglutination test (MAT) and the microscopic agglutination test (MAT) 12 (11.11%) had antibodies anti-*Leptospira* spp. and 18 (16.67%) were reacted to *Toxoplasma gondii*. The proportions of the serum-reactive animals, their 95% confidence intervals. The frequency of serovars reagents for *Leptospira* spp. 12 quatis Butembo were 16.67% (2/12); Whitcombi 8.33% (1/12); Sentot 8.33% (1/12); Gryppotyphosa 8.33% (1/12); Panama 8.33% (1/12); Hardjo bovis 8.33% (1/12); Hardjo ctg 8.33% (1/12); Hardjo prajitno 33.33% (4/12), and frequency of titles presented was: 100 IU 41.67% (5/12); 200 IU 41.67% (5/12); 400 IU 16.67% (2/12). The distribution of the securities offered to *Toxoplasma gondii* in 18 coatis (*Nasua nasua*) was 100 IU 41.67% (5/12); 200

IU 41.67% (5/12); 400 IU 16.67 (2/12). Therefore this study demonstrates the importance of anti-Toxoplasma gondii serological evaluation and anti Leptospira spp. free life coatis, which evaluates the epidemiological aspects related to these zoonoses and risks to public health because it maintains contact with humans.

INDEX TERMS: Leptospira spp ; coati, zoonoses

¹Recebido em

Aceito para publicação em

²Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu (FMVZ), Distrito de Rubião Júnior S/N, Rubião Júnior, 18618-970 - Botucatu, SP – Brasil, Pesquisa de Mestrado apoiado pela CAPES. *Autor para correspondência: gijunqueira@fmvz.unesp.br

³Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu (FMVZ), Distrito de Rubião Júnior S/N, Rubião Júnior, 18618-970 - Botucatu, SP – Brasil.

⁴ Departamento de Águas e Energia Elétrica de São Paulo, Parque Ecológico do Tietê. Rua Guira Acangatara, 70 Engenheiro Goulart 03719-000 - Sao Paulo, SP - Brasil

Resumo: A toxoplasmose e a leptospirose são doenças zoonóticas que acometem animais domésticos e selvagens. Inquéritos soroepidemiológicos em quatis (*Nasua nasua*) são importantes para conhecimento, vigilância e controle de doenças. O objetivo deste trabalho foi verificar a soroprevalência de *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii*, em 108 amostras de soro de quatis mantidos em vida livre, provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Dos 108 animais examinados, 30 reagiram para o Teste de Soroaglutinação modificada (SAM) e para o teste de aglutinação microscópica (MAT) 12 (11,11%) apresentaram anticorpos anti- *Leptospira* spp. e 18 (16,67%) reagiram para *Toxoplasma gondii*. As proporções dos animais soro-reatores e os respectivos intervalos de confiança de 95%. A frequência dos sorovares reagentes para *Leptospira* spp. em 12 quatis foram *Butembo* 16,67% (2/12); *Whitcombi* 8,33% (1/12); *Sentot* 8,33% (1/12); *Gryppotyphosa* 8,33% (1/12);

Panama 8,33% (1/12); *Hardjo bovis* 8,33% (1/12); *Hardjo ctg* 8,33% (1/12); *Hardjo praetense* 33,33% (4/12) e frequência dos títulos apresentados foi: 100 UI 41,67% (5/12); 200 UI 41,67% (5/12); 400 UI 16,67% (2/12). A distribuição dos títulos apresentados para *Toxoplasma gondii* em 18 quatis (*Nasua nasua*) foi 100 UI 41,67% (5/12); 200 UI 41,67% (5/12); 400 UI 16,67% (2/12). Portanto o presente estudo demonstra a importância da avaliação sorológica anti- *Toxoplasma gondii* e anti- *Leptospira* spp. em quatis de vida livre, o que avalia os aspectos epidemiológicos relacionados a estas zoonoses e riscos para a saúde pública, pois mantém contato com humanos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Leptospira* spp.; quati, zoonoses

INTRODUÇÃO

A leptospirose é causada por diversas espécies de bactérias do gênero *Leptospira*, ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae. (GREENE et al., 2012). São bactérias espirais finas, com aproximadamente de 0,10 a 0,25µm de diâmetro e por 6-25 µm de comprimento, flexíveis, filamentosas e com extremidades em forma de gancho, possuem alta motilidade apresentando movimentos giratórios ao longo do seu próprio eixo (QUINN et al., 2005, GREENE et al., 2012).

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial que acomete animais domésticos e selvagens. Sua manifestação está relacionada a alta ocorrência de roedores infectados e precárias condições sanitárias (BRASIL et al., 2013). Há ampla variedade de espécies selvagens vivendo em condições diferentes do seu habitat natural, que representam um ambiente propício à disseminação de doenças, muitas delas zoonóticas (PIMENTEL et al., 2009). A participação dos animais selvagens como reservatórios ou portadores de zoonoses na natureza e em cativeiro é de grande importância (ACHA e SZYFRES, 2003).

A infecção por *Leptospira* spp. ocorre pelo contato direto com urina ou tecidos de animais infectados, mordeduras, e também pelo contato indireto pela exposição de animais a fontes de água contaminada, solo úmido contaminado e outra forma de infecção e através da via transplacentária (FELT et al; 2011; GREENE et al; 2012)

Animais silvestres no ambiente urbano podem agir como reservatórios de vários agentes infecciosos. Muitos parques zoológicos se localizam na zona urbana, possibilitando a disseminação de agentes infecciosos por animais silvestres de vida livre para os animais em cativeiro (JUNGE et al., 2007). Parques zoológicos possuem recintos abertos para muitas das espécies mantidas em cativeiro, resultando na exposição dos animais a roedores e gambás predispondo-os às infecções (LENHARO et al., 2012).

A leptospirose em animais selvagens mantidos em cativeiro tornou-se importante devido os mesmos se tornarem portadores renais, o que os torna um risco para os trabalhadores das instalações do jardim zoológico, veterinários e visitantes (SCARCELLI et al., 2003).

Surtos de leptospirose foram associados ao turismo e atividades recreacionais em ambiente silvestre (BHARTI et al., 2003). Desta forma, verifica-se a importância de estudos relacionados ao papel de espécies de animais silvestres como reservatórios, tanto no ambiente silvestre como em cativeiro (LENHARO et al., 2012).

Toxoplasma gondii, é um protozoário intracelular obrigatório, podendo infectar várias espécies de animais e considerado um agente patogénico de carácter zoonótico (ACHA e SZYFRES 2003, CENCI -CONGA et al., 2011). Também pode infectar vários tipos de células a partir de uma ampla variedade de mamíferos e de aves em todo o mundo, incluindo os humanos e primatas não-humanos (SILVA et al., 2013).

A toxoplasmose pode causar infecção disseminada aguda como pneumonia intersticial aguda e necrose hepatocelular focal, febre, anorexia, vômito e diarreia principalmente quando relacionada a fatores imunossupressores (ANDRADE et al., 2007).

Praticamente todas as espécies de animais são susceptíveis ao *T. gondii* e as taxas de soropositividade e sinais clínicos variam nos diferentes hospedeiros. Por ser um agente causador de zoonoses e por seu impacto à saúde pública, o *Toxoplasma gondii* tem sido o coccídeo mais estudado (TENTER et al., 2000).

Apesar das pesquisas indicarem que os animais selvagens são frequentemente positivos nos testes sorológicos para a toxoplasmose, o papel

dessas espécies no ciclo epidemiológico da doença não é bem conhecido (DUBEY e LAPPIN, 2012).

Este trabalho teve como objetivo verificar soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Toxoplasma gondii*, em 108 Quatis (*Nasua nasua*) mantidos em vida livre provenientes do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Procurou demonstrar-se a importância da pesquisa sorológica para anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* e anti- *Leptospira* spp. em animais de vida livre na tentativa de avaliar aspectos epidemiológicos relacionados a essas duas doenças de cunho zoonótico.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental: Para estimar o número de animais necessários para o experimento (n) utilizou-se o programa OpenEpi Version 3. Considerou como referência de 50% com margem de erro de 10% e nível de significância $\alpha = 5\%$. Dessa forma obteve um número de 90 animais, ajustando-se o número final para 108 animais.

As análises estatísticas foram realizadas no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu, SP

Amostras: Foram utilizadas amostras de sangue de 108 quatis (*Nasua nasua*) de vida livre, jovens e adultos, machos (n=48) vasectomizados e fêmeas (n=60) castradas, com peso entre 2 a 6,5kg que foram coletadas durante procedimentos de rotina do Parque Ecológico do Tietê, no município de São Paulo (23° 29' 46" S 46° 31' 10" O) localizado na zona leste da cidade na divisa com o Município de Guarulhos.

Após a coleta de sangue, o mesmo foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, o soro acondicionado em microtubos devidamente identificado e mantidos em temperatura a -80°C. Após esse procedimento as amostras foram transportadas e armazenados no Laboratório de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP- Botucatu- SP também a -80°C até o momento do exame.

Provas Sorológicas: As amostras de soro testadas para anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi através da técnica de Soroaglutinação Microscópica, segundo as normas do Ministério da Saúde (MINISTERIO DA SAUDE, 1995).

Foram utilizados 31 sorovares como antígenos na prova de soroaglutinação microscópica (SAM) (Quadro a).

Quadro a- Relação de sorovares de *Leptospira* spp. utilizados no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ), UNESP Botucatu- São Paulo, 2015.

SOROGRUPO	SOROVAR	SOROGRUPO	SOROVAR
1 Australis	1A Australis	12 Javanica	12 Javanica
	1B Bratislava	13 Panama	13 Panama
2 Autumnalis	2A Autumnalis	14 Pomona	14 Pomona
	2B Butembo	15 Pyrogenes	Pyrogenes
3 Ballum	3 Castellonis	16 Sejroe	16A Hardjo
4 Bataviae	4A Bataviae		16B Wolffi
	4B Brasiliensis	17 Shermani	17 Shermani
5 Canicola	5 Canicola		18 Tarassovi
6 Celedoni	6B Whitcombi	Andamana	19 Andamana
7 Cynopteri	7 Cynopteri	Não determinado	21 Patoc
8 Djasiman	8A Djasiman	Serjoe	22 Guaricura
	8B Sentot	P	P Hardjo prajitno
9 Gryppotyphosa	9 Gryppotyphosa	M	M Hardjo minis
10 Hebdomadis	10 Hebdomadis	C	C Hardjo CTG
11 Icterohaemorrhagiae	11A Copenhageni	B	B Hardjo bovis
	11B Icterohaemorrhagiae		

Os soros foram triados nas diluições 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600, e os que apresentaram reação na triagem foram titulados com os respectivos antígenos de diluições de razão dois, equivalendo-se aos títulos 100, 200, 400, 800, 1600. Foi considerado como título a maior diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiros por campo microscópico em relação ao controle.

Para a pesquisa de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* foi utilizado o Teste de Aglutinação Direta Modificada (MAD) utilizando taquizóitos inativados pela formalina e 2-mercaptaetanol (DUBEY e DESMONTS, 1987). Soros foram examinados nas diluições de 1:25; 1:50; 1:100; 1:200 e 1:400. Títulos corresponderam à maior diluição que apresentou aglutinação. Soros controles positivos e negativos foram incluídos em cada teste.

Este projeto possui autorização para atividades com finalidades científicas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade-ICMBio, através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade-SISBIO, através do código de autenticação 46892224. Também foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP Campus de Botucatu, pelo protocolo nº 199/2014.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 108 animais examinados, 30 reagiram para o Teste de Soroaglutinação modificada (SAM) e para o teste de aglutinação microscópica (MAT) 12 (11,11%) apresentaram anticorpos anti- *Leptospira* spp. e 18 (16,67%) reagiram para *Toxoplasma gondii*. As proporções dos animais soro-reatores e os respectivos intervalos de confiança de 95% (Quadro b)

A frequência dos sorovares reagentes para *Leptospira* spp. em 12 quatis soropositivo foram *Butembo* 16,67% (2/12); *Whitcombi* 8,33% (1/12); *Sentot* 8,33% (1/12); *Gryppotyphosa* 8,33% (1/12); *Panama* 8,33% (1/12); *Hardjo bovis* 8,33% (1/12); *Hardjo ctg* 8,33% (1/12); *Hardjo prajitno* 33,33% (4/12) (Quadro c)

A distribuição dos títulos apresentados para *Toxoplasma gondii* em 18 quatis (*Nasua nasua*) foi 100 UI 41,67% (5/12); 200 UI 41,67% (5/12); 400 UI 16,67 (2/12) (Quadro d)

Quadro b- Resposta sorológica em 30 quatis (*Nasua nasua*) pelo Teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para *Leptospira* spp. e pelo Teste de Aglutinação Modificada (MAT) para *Toxoplasma gondii*. Botucatu-SP, 2015.

RESULTADO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM %	%[IC 95%]
Leptospira spp	12	11,11%	6,0- 19%
Toxoplasma gondii	18	16,67%	0,09-0,23%
TOTAL	30	27,78%	

Quadro c- Sorovares reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em 12 quatis (*Nasua nasua*). Botucatu- SP, 2015.

SOROVAR	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM%
<i>Butembo</i>	2	16,33%
<i>Whitcombi</i>	1	8,33%
<i>Sentot</i>	1	8,33%
<i>Gryppotymphosa</i>	1	8,33%
<i>Panama</i>	1	8,33%
<i>Hardjo bovis</i>	1	8,33%
<i>Hardjo CTG</i>	1	8,33%
<i>Hardjo prajitno</i>	4	33,33%
TOTAL	12	100%

Quadro d-Título de Anticorpos para *Toxoplasma gondii*. apresentado em 18 quatis (*Nasua nasua*) avaliados pela prova de Aglutinação Direta Modificada (MAD) Botucatu- SP. 2015.

Título	Frequência	Porcentagem
25	8	44,44%
50	3	16,67%
100	3	16,67%
200	1	5,56%
400	3	16,67%
TOTAL	18	100%

PAIXÃO et al. (2011) relataram a soroprevalência para Leptospirose em animais selvagens de vida livre procedentes do Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira- SP, avaliando que os animais foram reagentes para Australis (86%); Cynopteri (55%); Hardjo miniswajezak (77,7%); Autumnalis (66%); Hardjo, Shermani, Wolffi e Sentot (44,4%); Butembo, Gryppotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Copenhageni Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc e Tarassovi (22,2%); Hardjo prajitno e Castellonis (33,3%); Pyrogenes, Hardjobovis, Whitcombi, HardjoCTG Andamana, Javanica, Panamá, Bataviae e Pomona (11,1%), contanto não avaliaram sorovares reagentes para quatis.

Portanto o presente estudo corrobora com PAIXÃO et al. (2011) devido aos sorovares reagentes em 12 quatis soropositivo foram *Butembo* 16,67% (2/12); *Whitcombi* 8,33% (1/12); *Sentot* 8,33% (1/12); *Gryppotyphosa* 8,33% (1/12); *Panama* 8,33% (1/12); *Hardjo bovis* 8,33% (1/12); *Hardjo ctg* 8,33% (1/12); *Hardjo prajitno* 33,33%.

Parques zoológicos são importantes fontes de infecção de doenças, proporcionando uma disseminação de agentes etiológicos podendo infectar os animais selvagens, animais sinantrópicos, funcionários dos parques zoológicos e visitantes (CORRÊA et al., 2006; SILVA et al., 2007).

No Brasil estudos em zoológicos sobre zoonoses e a participação do quati (*Nasua nasua*) na cadeia epidemiológica da Toxoplasmose e Leptospirose são escassos.

CONCLUSÕES

A toxoplasmose e a leptospirose são doenças zoonóticas que acometem animais domésticos e selvagens. Inquérito soroepidemiológico de quati (*Nasua nasua*) são importantes para a vigilância e controle dessas doenças que possuem importância para saúde pública.

Os quatis possuem hábitos sinantrópicos representando risco à saúde humana pois há proximidade com o ambiente urbano.

O inquérito sorológico nesta pesquisa indicou infecção dos quatis soropositivos ao *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. no Parque Ecológico do Tietê- SP, porém é fundamental a realização de estudos em quatis por ser um animal com potencial zoonótico.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. 2003. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales: **Bacteriosis y Micosis**. vol.1. 3ª ed. Publicación Científica no.580, OPS, Washington, p.175-185, 2003.

ANDRADE, M.C.R; COELHO, J.M.C.O; AMENDOEIRA, M.R.R; VICENTE, R.T; CARDOSO, C.V.P, FERREIRA, P.C.B; MARCHECKY, R.S. Toxoplasmose em macacos-esquilo: Análise histológica e imunohistoquímica. **Ciência Rural** v.37, n.6, p. 1724-1727, 2007.

BRASIL, A.W.L; PERENTONI, R.N; FARIAS, R.C; NERY, T.F.L; VASCONCELLOS, S.A; AZEVEDO, S.S. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais mantidos em cativeiro na Paraíba. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2945-2950, 2013.

Cenci-Goga B.T., Rossitto P.V., Sechi P., McCrindle C.M.E. & Cullor J.S. *Toxoplasma* in animals, food, and humans: an old parasite of new concern. *Foodborne Pathogens Dis.* n.8, v.7, p.751-762, 2011.

FELT, S.A.; WASFY, M.O.; EL-TRASS, W.F.; SAMIR, A.; RAHAMAN, B.A.; BOSHRA, M.; PARKER, T.M.; HATEM, M.E.; EL-BASSIOUNY, A.A.; MURRAY, C.K.; PIMENTEL, G. Cross species surveillance of *Leptospira* in domestic and

peri-domestic animals in Mahalla city, Gharbeya Governorate, Egypt. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.84, n.3, p.420-425, 2011.

CORRÊA, S. H. R. Leptospirose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, p. 736-741, 2006.

DUBEY, J.P; LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis and Neosporosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4ed, Elsevier, Sta. Louis, Missouri, p.806-824, 2012.

GREENE, C.E; SYKES, J.E; MOORE, G.E; GOLDSTEIN, R.E; SCHULTZ, R.D. Leptospirosis. **Infectious diseases of the dog and cat**, Elsevier, St. Louis, Missouri, 4 ed, cap.42, p. 431- 447, 2012.

JUNGE, R.E.; BAUMAN, K.; KING, M.; GOMPPER, M.E. Aserologic assessment of exposure to viral pathogens and *Leptospira* in an urban raccoon (*Procyon lotor*) population inhabiting a large zoological park. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.38, n.1, p.18-26, 2007.

LENHARO, D.K; SANTIAGO, M.E.B; LUCHEIS. Avaliação sorológica para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do Parque Zoológico Municipal de Bauru, SP. **Arquivo Instituto de Biologia**. São Paulo, v.79, n.3, p.333-341, 2012.

PAIXÃO, M.S; ALVES, M.F; PIRAJÁ, G.V; ALVES, M.L; FERREIRA, A.G; TENÓRIO, M.S; BUZETTI, W.A.S; LUCHEIS, S.B. Soroprevalência para Leptospirose em animais de vida livre procedentes do Centro da Fauna Silvestre de Ilha Solteira, SP. *Biológico*, São Paulo, v.73, n.2, p.20-213, 2011.

PIMENTEL, J.S; GENNARI, S.M; DUBEY, J.P; MARVULO, M.F.V; VASCONCELLOS, S.A; MORAIS, Z.M; SILVA, J.C.R; EVÊNCIA, J.N. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens

neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.29, p.1009-1014, 2009.

QUINN, P.J; MARKEY, B.K; CARTER, M.E; DONNELLY, W.J.C; LEONARD, F.C; MAGUIRE, D. Espiroquetas. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. São Paulo: Artmed, p.179-183, 2005.

SCARCELLI, E; PIATTI, R.M; FEDULLO, J.D.L; SIMON, FAICAL; CARDOSO, M.V; CASTRO, V; MIYASHIRO, S; GENOVEZ, E. *Leptospira* spp. Detection by polymerase chain reaction (PCR) in clinical samples of captive black- capped capuchin monkey (*Cebus apella*). **Brazilian Journal of Microbiology**. vol.34 p.143-146, 2003.

SILVA, E.F.; BROD, C.S.; CERQUEIRA, G.M.; BOURSCHEIDT, D.; SEYFFERT, N.; QUEIROZ, A.; SANTOS, C.S.; KO, A.I.; DELLAGOSTIN, O.A. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. **Vet. Microbiol.**, v.121, p.144-149,2007.

SILVA, R.C; MACHADO, G.P; MOROSINI, C.A; CRUVINEL, C.A; LANGONI, H. Frequencia de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* los macacos-prego (*Cebus apella nigritus*) de Estação Ecológica localizada no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**.. Rio de Janeiro, vol.33 no.2, 2013.

TENTER, A.M; HECKROTH, A.R; WEISS, L.M; *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**.Oxford, v.30, n.12-13, p.1217–1258, 2000

LEGENDA DOS QUADROS

Quadro a- Relação de sorovares de *Leptospira* spp. utilizados no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ), UNESP Botucatu- São Paulo, 2015

Quadro b - Resposta sorológica em 30 quatis (*Nasua nasua*) pelo Teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para *Leptospira* spp. e pelo Teste de Aglutinação Modificada (MAT) para *Toxoplasma gondii*. Botucatu- SP, 2015.

Quadro c- Sorovares reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em 12 quatis (*Nasua nasua*). Botucatu- SP, 2015.

Quadro d- Título de Anticorpos para *Toxoplasma gondii*. apresentado em 18 quatis (*Nasua nasua*) avaliados pela prova de Aglutinação Direta Modificada (MAD) Botucatu- SP. 2015.

ANEXOS**ANEXO A- Parecer de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus de Botucatu**A T E S T A D O**

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa **"Avaliação da ocorrência de títulos sorológicos de anticorpos anti-Leptospira spp., anti-Toxoplasma gondii em Quati (Nasua nasua)"** Protocolo nº 199/2014 - CEUA, do Professor Antonio Carlos Paes, a ser conduzido por **Gisele Junqueira dos Santos**, desta Faculdade, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em 12 de dezembro de 2014.

Profª. Ass. Drª. Maria Lúcia Gomes Lourenço

Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

ANEXO B- Parecer de Aprovação pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio).



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 47267-1	Data da Emissão: 03/02/2015 06:40	Data para Revalidação*: 04/03/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Gisele Junqueira dos Santos	CPF: 349.941.128-86
Título do Projeto: Avaliação da Ocorrência de Títulos sorológicos de Anticorpos Anti- Leptospira spp. e Anti Toxoplasma gondii em Quati (Nasua nasua)	
Nome da Instituição : FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA	CNPJ: 48.031.918/0020-97

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

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

Código de autenticação: 46892224



Página 4/4