



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
E SAÚDE PÚBLICA

JAQUELINE ATAÍDE SILVA LIMA

**COMPARAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE PARASITOS
ENTÉRICOS EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS EM
GOIÂNIA-GOIÁS, ANÁLISE DA ACURÁCIA DE TÉCNICAS
PARASITOLÓGICAS E AVALIAÇÃO DA COPRO-PCR PARA
O DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii***

Goiânia
2016

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

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

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Jaqueline Ataíde Silva Lima

Título do trabalho: COMPARAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE PARASITOS ENTÉRICOS EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS EM GOIÂNIA-GOIÁS, ANÁLISE DA ACURÁCIA DE TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS E AVALIAÇÃO DA COPRO-PCR PARA O DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii*

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 17 / 01 / 2017

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

JAQUELINE ATAÍDE SILVA LIMA

**COMPARAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE PARASITOS
ENTÉRICOS EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS EM
GOIÂNIA-GOIÁS, ANÁLISE DA ACURÁCIA DE TÉCNICAS
PARASITOLÓGICAS E AVALIAÇÃO DA COPRO-PCR PARA O
DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientadora:
Profª Drª Ana Maria de Castro

**Goiânia
2016**

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

Ataíde Silva Lima, Jaqueline

COMPARAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE PARASITOS ENTÉRICOS
EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS EM GOIÂNIA-GOIÁS,
ANÁLISE DA ACURÁCIA DE TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS E
AVALIAÇÃO DA COPRO-PCR PARA O DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma*
gondii [manuscrito] / Jaqueline Ataíde Silva Lima. - 2017.

XIII, 67 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Ana Maria de Castro.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2017.

Bibliografia. Anexos.

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

1. gatos errantes e domiciliados. 2. prevalência. 3. acurácia. 4. copro-pcr. 5. toxoplasma gondii. I. de Castro, Ana Maria, orient. II. Título.

CDU 576.8

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
Rua 235, s/n – Setor Universitário - Goiânia/GO – CEP: 74.605-050
Fones: (62) 3209.6362 - 3209.6102 – Fax: (62) 3209.6363 – e-mail : ppgmtsp.ufg@gmail.com



ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE JAQUELINE ATAÍDE SILVA LIMA – Aos treze dias do mês de dezembro do ano de 2016 (13/12/2016), às 14:00 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. ANA MARIA DE CASTRO, WELBER DANIEL ZANETTI LOPES e DANIELLA DE SOUSA MENDES MOREIRA ALVES, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: “**COMPARAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE PARASITOS ENTÉRICOS EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS EM GOIÂNIA-GOIÁS, ANÁLISE DA ACURÁCIA DE TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS E AValiação DA COPRO-PCR PARA O DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii***”, em nível de **MESTRADO**, área de concentração em **PARASITOLOGIA**, de autoria de **JAQUELINE ATAÍDE SILVA LIMA**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora, Profa. Dra. ANA MARIA DE CASTRO, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou o Candidato sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca argüiu a Candidata, tendo-se adotado o sistema de diálogo seqüencial. Terminada a fase de argüição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1304/2014 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata **Aprovada ou Reprovada**:

Banca Examinadora

Profa. Dra. Ana Maria de Castro

Prof. Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes

Dra. Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves

Aprovada / Reprovada

Aprovada

APROVADA

Aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata habilitada, (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **PARASITOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 15 h 45 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, JOSÉ CLEMENTINO DE OLIVEIRA NETO, secretário do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

Assinatura

Profa. Dra. Ana Maria de Castro (IPTSP/UFG)

Prof. Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes (IPTSP/UFG)

Dra. Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves (IPTSP/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

Ana Maria de Castro
Welber Daniel Zanetti Lopes
Daniella de Souza Mendes Moreira Alves
José Clementino de Oliveira Neto

“A humildade é o primeiro degrau para a sabedoria”

São Tomás de Aquino

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, aos quais tantas vezes recorri para solicitar força, sabedoria e paciência para realizar este trabalho que concretiza uma grande vitória em minha vida.

Aos meus pais Mauro e Neide, ao meu querido irmão Felipe e ao meu noivo Alberto, que com amor e paciência me apoiaram, incentivaram e me deram forças para realizar esta atividade em que todos acompanharam e viram o quanto foi cansativo, mas com certeza gratificante. Obrigada por aceitarem com carinho e compreensão as minhas ausências.

Ao meu irmão Wanderson, à tia Eliana e aos meus avós, que partiram desta vida deixando apenas saudade. A eles meu carinho e admiração eterna!

A querida professora Ana Maria, que se dispôs desde o início a me orientar e sempre atendeu prontamente minhas solicitações, me acalmando em meus momentos de ansiedade e insegurança.

Aos meus amigos e colegas, que sempre me atenderam com atenção e solicitude nas muitas vezes que necessitei de ajuda.

Aos professores participantes da banca examinadora que dividiram comigo este momento tão importante e esperado, pela disponibilidade e pelas contribuições.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, os meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	VII
SUMÁRIO.....	VIII
TABELAS, FIGURAS E ANEXOS.....	X
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	XII
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XV
1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA.....	1
1.1. PRINCIPAIS PARASITOS ENTÉRICOS EM GATOS.....	2
1.2. TOXOPLASMOSE: ASPECTOS HISTÓRICOS.....	5
1.3. <i>Toxoplasma gondii</i> : CLASSIFICAÇÃO E CICLO BIOLÓGICO.....	6
1.4. EPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE.....	11
1.5. IMPORTÂNCIA DO GATO NA EPIDEMIOLOGIA TOXOPLASMOSE.....	12
1.6. CONCEITO “ONE HEALTH”.....	14
1.7. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE PARASITOS ENTÉRICOS.....	16
1.8. A COPRO-PCR NO DIAGNÓSTICO DE <i>Toxoplasma gondii</i>	17
2. JUSTIFICATIVA.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. OBJETIVO GERAL.....	21
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
4. MÉTODOS.....	22
4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	22
4.2. DESCRIÇÃO DO GRUPO DE ESTUDO.....	22
4.3. COLETA DAS AMOSTRAS FECAIS.....	23
4.4. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS FECAIS.....	23
4.4.1. Método de Sheather (1923).....	23
4.4.1.1. Material utilizado.....	24
4.4.1.2. Preparação da solução de Sheather.....	24

4.4.1.3. Procedimento técnico.....	24
4.4.2. Método de Faust e Colaboradores (1938).....	25
4.4.2.1. Material utilizado.....	25
4.4.2.2. Preparação da solução de Sulfato de Zinco.....	25
4.4.2.3. Procedimento técnico.....	26
4.4.3. Método de Hoffman, Pons e Janer ou Lutz.....	26
4.4.3.1. Material utilizado.....	26
4.4.3.2. Procedimento técnico.....	27
4.4.4. Método de Willis (1921).....	27
4.4.4.1. Material utilizado.....	27
4.4.4.2. Preparação da solução de NaCl.....	27
4.4.4.3. Procedimento técnico.....	28
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA E ACURÁCIA.....	28
4.6. COPRO-PCR PARA DETECÇÃO DE <i>Toxoplasma gondii</i>	30
5. RESULTADOS / DISCUSSÃO.....	31
5.1. PREVALÊNCIA DE PARASITOS ENTÉRICOS EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS.....	31
5.2. AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DAS TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS.....	39
5.3. AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DA COPRO-PCR PARA NA CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO CONVENCIONAL E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE OOCISTOS DE <i>Toxoplasma gondii</i>	42
6. CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXOS.....	62

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

Figura 1. Morfologia geral do taquizoíto de <i>Toxoplasma gondii</i>	7
Figura 2. Taquizoíto de <i>Toxoplasma gondii</i> em lavado peritoneal de camundongos Balb/c, corados por Panótico, com aumento de 1000 vezes em imersão.....	7
Figura 3. Cisto de <i>Toxoplasma gondii</i> em macerado de cérebro de camundongo Balb/c, infectado com a cepa ME49, ampliação de 400 vezes.....	8
Figura 4. Oocisto esporulado de <i>Toxoplasma gondii</i> esporulado em material a fresco, aumento de 400 vezes. Réguas micrométricas na escala de 1µm.....	9
Figura 5. Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i>	11
Figura 6. Modelo demonstrativo do “One Health”.....	15
Figura 7. Prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes e domiciliados de Goiânia-Goiás	32
Figura 8. Distribuição e comparação de parasitos entéricos em fezes de gatos errantes e domiciliados de Goiânia-Goiás.....	38
Figura 9. Detecção de oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i> nas amostras fecais de gatos errantes e domiciliados pelas técnicas parasitológicas de fezes e Reação de Cadeia da Polimerase.....	44
Tabela 1. Comparação entre as principais características de helmintos com importância médica e veterinária encontrados em gatos.....	4

Tabela 2. Comparação entre as principais características de protozoários com importância médica e veterinária encontrados em gatos.....	4
Tabela 3. Avaliação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e índice <i>kappa</i> , em tabela de contingência 2x2.....	29
Tabela 4. Escala de concordância do índice <i>kappa</i>	30
Tabela 5. Prevalência de parasitos entéricos em fezes de gatos errantes e domiciliados de Goiânia-Goiás.....	33
Tabela 6. Avaliação da acurácia das técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis (padrão-ouro), para o diagnóstico de Ancilostomídeos.....	40
Tabela 7. Avaliação da acurácia das técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis (padrão-ouro), para o diagnóstico de <i>Cystoisospora</i> sp.....	41
Tabela 8. Avaliação da acurácia das técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis (padrão-ouro), para diagnóstico de <i>Toxoplasma gondii/Hammondia hammondi</i>	42
Tabela 9. Avaliação da concordância através do índice <i>kappa</i> (<i>k</i>) pelas técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis.....	42
Tabela 10. Comparação da performance dos métodos parasitológicos convencionais com a Copro-PCR no diagnóstico de oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i>	44
Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética nº 054/13.....	62
Anexo 2. Parecer do Comitê de Ética nº 024/2016.....	65

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

µm	Micrômetros
CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
CEUA	Comitê de Ética para Uso de Animais
cm	Centímetro
Copro-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase em amostras fecais
dATP	Desoxiadenosina Trifosfato
dCTP	Desoxicitosina Trifosfato
dGTP	Desoxiguanosina Trifosfato
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dTTP	Desoxitimidina Trifosfato
EPF	Exame Parasitológico de Fezes
HJPL	Hoffman-Janer-Pons-Lutz
IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
K	Índice kappa
M	Molar
mg	Miligramas
MgCl₂	Cloreto de Magnésio
Min	minuto
mL	Mililitro
 mM	Milimolar
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
°C	Graus Celsius
OIE	<i>World Organisation for Animal Health</i>
ONG	Organização não Governamental
Pb	Pares de bases
PBS	Tampão Fosfato Alcalino
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RPM	Rotações por Minuto

RESUMO

Os gatos podem ser veiculadores de agentes zoonóticos para o homem, entre eles os parasitos intestinais, incluindo *Toxoplasma gondii*. Os objetivos deste estudo foram avaliar a prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes e gatos domiciliados no período de março de 2015 a maio de 2016; analisar a acurácia de diferentes métodos laboratoriais para o diagnóstico destes parasitos entéricos e verificar a performance da Copro-PCR na confirmação do diagnóstico parasitológico convencional e diagnóstico diferencial de oocistos de *T. gondii*. As amostras de fezes coletadas foram processadas pelos métodos de Willis, Sheather, Faust e Hoffman-Janer-Pons-Lutz (HJPL) e Copro-PCR para *T. gondii* através da amplificação do gene B1. A análise de acurácia foi realizada determinando a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e índice *kappa* (*k*). Foram coletadas 65 amostras de fezes de gatos errantes capturados pelo CCZ de Goiânia-GO e por uma Organização Não Governamental protetora de animais e 84 amostras de gatos domiciliados em Goiânia-GO, sendo um total de 149 amostras. A prevalência de parasitos entéricos nos gatos errantes foi de 60% (39/65) e nos gatos domiciliados foi de 17% (14/84). Nas amostras positivas dos gatos errantes, foi possível observar que 43,5% (17/39) dos animais estavam infectados por monoparasitismo, sendo 30,7% (12/39) apresentaram ovos de Ancilostomídeos; 5,1% (2/39) oocistos de *T. gondii/H. hammondi*; 5,1% (2/39) ovos de *Toxocara cati*; 2,6% (1/39) oocistos de *Cystoisospora* sp.; e 56,5% (22/39) dos animais apresentaram poliparasitismo, sendo que 18% (7/39) estavam infectados por Ancilostomídeos, *Cystoisospora* sp. e *T. gondii/H. hammondi*; 13% (5/39) por *T. gondii/H. hammondi* e *Cystoisospora* sp.; 10,2% (4/39) por *T. gondii/H. hammondi* e Ancilostomídeos; 10,2% (4/39) por Ancilostomídeos e *Cystoisospora* sp.; 5,1% (2/39) por Ancilostomídeos e *T. cati*. No grupo de gatos domiciliados, observou-se monoparasitismo, sendo que 57,1% (8/14) estavam infectados por Ancilostomídeos; 21,4% (3/14) por *T. gondii/H. hammondi*; 14,3% (2/14) por *T. cati*; 7,2% (1/14) por *Cystoisospora* sp. Na análise de acurácia para Ancilostomídeos e *T. gondii/H. hammondi*, a técnica de Faust apresentou melhor desempenho, e para *Cystoisospora* sp., a técnica de HP JL obteve maior acurácia. Na

Copro-PCR das 23 amostras identificadas como *T. gondii/H. hammondi*, 6 eram realmente *T. gondii*, demonstrando a capacidade de realização de diagnóstico diferencial da técnica. Além disso a Copro-PCR também foi possível identificar a presença de material genético de *T. gondii* em 16,1% (24/149) das amostras fecais analisadas. Em 12,1% (18/149) das amostras positivas pela Copro-PCR, foram negativas nos exames parasitológicos de fezes convencionais. Em 4% (6/149) das amostras houve concordância de positividade pelos exames parasitológicos convencionais e Copro-PCR. Ao comparar os grupos, observou-se que os gatos errantes apresentam alta prevalência de parasitos entéricos em relação aos gatos de companhia. A Copro-PCR é uma ferramenta capaz de realizar o diagnóstico diferencial de coccídeos e sua sensibilidade elevada detectou amostras positivas mesmo consideradas negativas pelo padrão-ouro. Esses resultados nos permitem concluir que os gatos apresentam importância epidemiológica na contaminação ambiental e na transmissão de zoonoses, tanto por gatos errantes, como pelos domiciliados, que apresentaram elevado parasitismo no presente estudo.

ABSTRACT

Cats are backers of zoonotic agents to man, including intestinal parasites, including *Toxoplasma gondii*. The aim of this study was to evaluate the prevalence of enteric parasites in stray cats and cats resident in the period from March 2015 to May 2016; analyzing the accuracy of various laboratory methods for diagnosis of enteric parasites and verify Copro-PCR performance in conventional parasitological confirmation of diagnosis and differential diagnosis of *T. gondii* oocysts. Samples of faeces were collected processed by methods Willis, Sheather, Faust and Hoffman-Janer-Pons-Lutz (HJPL) and Copro-PCR amplification using *T. gondii* B1 gene. The accuracy analysis was performed by determining the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and kappa (k). We collected 65 samples of feces of stray cats captured by the CCZ of Goiania-GO and a Non Governmental Organization protector of animals and 84 samples of resident cats in Goiânia-GO, with a total of 149 samples. The prevalence of enteric parasites in cats roving was 60% (39/65) and the resident cats was 17% (14/84). In positive samples of stray cats, it was observed that 43.5% (17/39) of the animals were infected by monoparasitism, 30.7% (12/39) had eggs of Hookworm; 5.1% (2/39) *T. gondii/H. hammondi* oocysts; 5.1% (2/39) *Toxocara cati*; 2.6% (1/39) oocysts *Cystoisospora* sp.; and 56.5% (22/39) of the animals had multiple parasitic infections, and 18% (7/39) were infected by Hookworm, *Cystoisospora* sp. and *T. gondii/H. hammondi*; 13% (5/39) *T. gondii/H. hammondi* and *Cystoisospora* sp.; 10.2% (4/39) *T. gondii / H. hammondi* and Hookworms; 10.2% (4/39) for Hookworms and *Cystoisospora* sp.; 5.1% (2/39) for Hookworms and *T. cati*. In the group of resident cats, monoparasitism was observed, and 57.1% (8/14) were infected by Hookworm; 21.4% (3/14) *T. gondii/H. hammondi*; 14.3% (2/14) *T. cati*; 7.2% (1/14) of *Cystoisospora* sp. The accuracy analysis for Hookworms and *T. gondii / H. hammondi* the Faust technique performed better, and *Cystoisospora* sp., the HPJL technique obtained higher accuracy. In Copro-PCR of the 23 samples identified as *T. gondii/H. hammondi*, 6 were diagnosed as *T. gondii*, demonstrating the ability to perform the technical differential diagnosis. In addition to Copro-PCR it was also possible to identify the presence of genetic material of *T.*

gondii 16.1% (24/149) of the fecal samples analyzed. 12.1% (18/149) of the positive samples by Copro-PCR were negative in parasitological examinations of conventional stool. 4% (6/149) of the samples were positive agreement by conventional parasitological examinations and Copro-PCR. Comparing the two groups, it was observed that stray cats have a high prevalence of enteric parasites in relation to pet cats. Copro-PCR is a tool capable of performing the differential diagnosis of coccidia and its high sensitivity positive samples detected even considered negative by the gold standard. These results allow us to conclude that cats have epidemiological importance in environmental contamination and transmission of zoonosis, both stray cats, as the resident, who had high parasitism in this study.

1 INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA

A domesticação de gatos iniciou-se há cerca de 5.000 anos. Desde então, os animais participam do complexo esquema das relações humanas. Motivado por necessidades específicas, o homem primitivo provavelmente recorreu aos animais para obtenção de proteção, auxílio para o trabalho, estimulação e prazer pela companhia. A interação entre o homem e animal é intensa o suficiente para que as atitudes e personalidade dos proprietários influenciem os modos de vida do animal e vice-versa (BERGLER, 1998; CANATTO, 2010).

Thomas em 2001, ao caracterizar a proximidade e intimidade neste tipo de relação, distinguiu em três pontos os animais de estimação dos demais animais domésticos: permitir livre acesso ao interior das residências, receber nome individualizado e não ser fonte de alimento para o homem.

O convívio com animais influencia positivamente nos efeitos psicológicos (diminuição da depressão, estresse e ansiedade, melhora do humor); efeitos fisiológicos (menor pressão arterial e frequência cardíaca, maior expectativa de vida, estímulo a atividades saudáveis) e efeitos sociais (companhia para idosos, deficientes físicos e mentais; melhorias no aprendizado e socialização de crianças) (BECK E MEYERS, 1996; CANATTO, 2010; SAMPAIO, 2014).

A importância dos gatos na Saúde Pública toma vulto ao considerarmos o contato íntimo, a higiene do animal e do ambiente influenciando na transmissão de doenças (BERGLER, 1998). Os riscos para a saúde humana são as zoonoses, alergias e agressões por mordeduras, enquanto que para a saúde animal são as doenças infecciosas, doenças parasitárias e também agressões por mordeduras entre os animais (BECK E MEYERS, 1996; CANATTO, 2010).

Surgiram preocupações com o crescimento populacional dos gatos sem supervisão de um responsável, levando os órgãos de saúde a elaborar programas de controle populacional, envolvendo, inclusive, diversas entidades de proteção animal e clínicas veterinárias particulares. Outra preocupação é o crescente número de animais de companhia, principalmente nos grandes centros, que tem estreitado o contato entre esses e o homem, aumentando a exposição humana a agentes de

zoonoses, sendo que a relação de proximidade que o homem tem com esses animais potencializa o risco de transmissão, com implicações em saúde pública (PAGE, 2008). Os problemas do crescimento sem controle da população felina é a poluição ambiental, danos às propriedades públicas e privadas, risco de mordeduras e transmissão de agentes causadores de doenças (INSTITUTO PASTEUR, 2000; SAMPAIO, 2014).

O número de gatos abandonados em abrigos ou nas ruas é cada vez maior (LORD, 2008) e os seguintes fatores contribuem para este fato: Mudanças nas circunstâncias pessoais do dono (mudança de casa, gravidez ou divórcio), problemas financeiros, alergias e problemas comportamentais do animal, principalmente os relativos à reprodução, sendo a presença não desejada de filhotes uma das maiores razões para o abandono. Comportamentos de eliminação (urina e fezes) e marcação de território são igualmente apresentados como razões para abandonar os animais (PATRONEK et al., 1996; ROCHLITZ, 2000; SOUZA-DANTAS, 2009; PAIXÃO E MACHADO, 2014; ABINPET, 2016).

Segundo Paixão e Machado (2015), o abandono dos animais ocorre, dentre outras razões, principalmente pelo desgosto do proprietário ou tutor frente às exibições comportamentais do gato. O crescente número de animais abandonados representa um fator de risco de exposição humana a diversas espécies de microrganismos patogênicos, entre eles os parasitos entéricos, que podem provocar sérias enfermidades (MCCARTHY E MOORE, 2000; TEIXEIRA et al., 2006; LEVRINI, 2015).

1.1. PRINCIPAIS PARASITOS ENTÉRICOS EM GATOS

Os parasitos entéricos dos animais domésticos de estimação, além de serem responsáveis diretamente por danos à saúde de seus hospedeiros habituais podem, ocasionalmente, infectar o homem, sendo também neste, capazes de acarretar doença (SERRA et al., 2003).

Segundo Chandler et al. (1989), os parasitos do gato compreendem uma série de espécies encontradas em cada um dos principais grupos taxonômicos e a sua incidência depende inteiramente do estilo de vida do animal, que ao contrário dos

cães domésticos, que são controlados pelos proprietários, vagueiam livremente, podendo suplementar suas refeições na vida silvestre, adquirindo consequentemente, mais parasitos. A maior parte dos parasitos dos gatos tem um ciclo biológico indireto. Os hospedeiros intermediários são artrópodes, moluscos, anfíbios, répteis, aves e mamíferos, podendo mais de um hospedeiro intermediário estar envolvido na transmissão.

Os gatos errantes são importantes reservatórios de enteroparasitos, pois os animais mal alimentados são mais suscetíveis aos efeitos dos parasitos, e mais propensos a abrigar infecções com maior carga parasitária. Uma boa nutrição oferece proteção completa contra o número excessivo de algumas espécies de parasitos (BLOOD et al, 1983; BALASSIANO et al., 2009). Dessa forma, eles contaminam através de suas fezes, locais públicos entre estes, aqueles frequentados por crianças, como parques e bancos de areia, expondo animais domiciliados e o homem a um maior risco de infecção (SHIMIZU, 1993, CÔRTES et al., 1988). Os parasitos gastrintestinais na espécie felina têm grande importância, não somente pela ação espoliativa ao hospedeiro, mas também pelo caráter na Saúde Pública, como zoonoses (MCCARTHY E MOORE, 2000; BALASSIANO et al., 2009).

As zoonoses propagadas pelos gatos, podem acarretar doenças importantes no homem, como a larva *migrans* cutânea provocada por *Ancylostoma braziliense*, e a larva *migrans* visceral causada por *Toxocara* sp. Entre os protozoários, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium felis* e *Toxoplasma gondii* são mais comumente encontrado nos gatos domésticos, por esse motivo os enteroparasitos nos felinos são um risco à saúde pública (SCHANTZ, 1991; CIMERMAN et al., 1999; MCCARTHY E MOORE, 2000; GUIMARÃES et al., 2005; LIMA et al., 2006; MENDES-DE ALMEIDA et al., 2007; THOMPSON et al., 2007; FUNADA et al., 2007; PALUDO et al., 2007; MORO et al., 2008; TZANNES et al., 2008; PALMER et al., 2008; MONTEIRO et al., 2016). Os helmintos mais prevalentes no gato doméstico são *Ancylostoma* sp., *Toxocara cati* e *Dipylidium caninum* (CÔRTES et al., 1988; GENNARI et al., 1999; SILVA et al., 2001; RAGOZO et al., 2002; SERRA et al., 2003; COELHO, 2008; MONTEIRO et al., 2016).

Os principais parasitos entéricos de importância médico-veterinária estão descritos nas tabelas 1 e 2 a seguir.

Tabela 1. Comparação entre as principais características de helmintos com importância médica e veterinária encontrados em gatos (Rey, 2002; De Carli, 2011).

Espécie	Forma infectante	Transmissão	Doença causada
Ancilostomídeos	Larva	Penetração das larvas na pele ou mucosa bucal Ingestão de água ou alimentos com larvas	Humanos: Larva Migrans Cutânea Animais: Ancilostomose
<i>Toxocara cati</i>	Ovos	Ingestão de alimentos ou água com ovos contendo L3	Humanos: Larva Migrans Visceral Animais: Toxocaríase
<i>Dipylidium caninum</i>	Ovos e Larvas	Ingestão do hospedeiro intermediário contendo larvas cisticercóides; Ingestão de proglotes grávidas	Humanos e Animais: Dipilidiose

Tabela 2. Comparação entre as principais características de protozoários com importância médica e veterinária encontrados em gatos (Rey, 2002; De Carli, 2011; Dubey e Ferguson, 2015).

Espécie	Forma infectante	Transmissão	Doença causada
<i>Giardia intestinalis</i>	Cisto	Ingestão de água e alimentos contendo cistos	Humanos e Animais: Giardíase
<i>Cryptosporidium felis</i>	Oocistos	Ingestão de água e alimentos contendo oocistos	Humanos e Animais: Criptosporidiose
<i>Cystoisospora sp.</i>	Oocistos	Ingestão de água e alimentos contendo oocistos	Humanos e Animais: Cistoisosporíase
<i>Toxoplasma gondii</i>	Oocistos, Bradizoítos, Taquizoítos	Ingestão de oocistos esporulados através de água e alimentos Ingestão de cistos com bradizoítos através de carne crua ou mal cozida Transplacentária	Humanos e Animais: Toxoplasmose
<i>Hammondia hammondi</i>	Oocistos	Ingestão de oocistos esporulados	Humanos: não causa doença Animais: Coccidiose

1.2. TOXOPLASMOSE: ASPECTOS HISTÓRICOS

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, causada por *T. gondii*, um parasito coccídeo intracelular obrigatório, que infecta a maioria dos animais homeotérmicos incluindo as aves, os animais domésticos, silvestres e o homem (DUBEY E BEATTIE, 1988; REMINGTON et al., 1995).

T. gondii foi primeiramente descrito por Splendore (1908) em coelhos de laboratório, no Brasil, em São Paulo, como *Leishmania* e, concomitantemente, por Nicolle e Manceaux (1908) que descreveram taquizoítos do mesmo agente nos tecidos de *Ctenodactylus gundi*, um roedor africano, utilizado como animal de laboratório, no Instituto Pasteur da Tunísia. Este foi incluído no gênero *Leishmania*, como *Leishmania gondii* e no ano seguinte, Nicolle e Manceaux (1909) descreveram e denominaram o gênero *Toxoplasma*. O nome deriva do grego no qual *toxon* = arco e *plasma* = forma, referindo-se ao formato em lua crescente do taquizoíto (DUBEY E BEATTIE, 1988; DUBEY, 1998; FORTES, 1993).

O primeiro caso de toxoplasmose humana foi descrito em 1923 em uma criança de 11 anos de idade que apresentava hidrocefalia e microftalmia (SUKTHANA, 2006). Em 1937, *T. gondii* foi reconhecido como o agente causador de encefalomielite em crianças recém-nascidas, sendo que cinco anos mais tarde comprovou-se a sua transmissão vertical em humanos (TENTER et al., 2000). Apesar de vários estudos terem sido realizados desde o início do século XX, somente na década de 1960 o ciclo biológico do parasito foi elucidado, ao demonstrar estágios infecciosos de *T. gondii* nas fezes de gatos, e que estes poderiam transmiti-los a hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 1970).

A toxoplasmose é de grande importância em saúde pública e, em condições normais a infecção se cronifica e leva à formação de cistos que podem se manter latentes por longos períodos. Embora assintomática na maioria dos indivíduos, a primo-infecção em gestantes pode fazer com que o parasito atinja o feto e provoque lesões neurológicas severas no recém-nascido ou induza abortos, principalmente nas fases iniciais da gestação. Em indivíduos imunossuprimidos e gestantes pode causar reativação de infecções latentes, levando a quadros clínicos severos e às vezes fatais; em alguns animais de produção a toxoplasmose pode acarretar

grandes perdas econômicas (DUBEY E BEATTIE, 1988; LÜDER E GROSS, 1998; TENTER et al., 2000).

1.3. *Toxoplasma gondii*: CLASSIFICAÇÃO E CICLO BIOLÓGICO

O parasito pertence ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoea, Sub-classe Coccidia, Ordem Eucoccidiida, Subordem Eimeriina, Família Sarcocystidae e Sub-família Toxoplasmatinae, Gênero *Toxoplasma* (LEVINE et al., 1980), com somente uma espécie válida: *Toxoplasma gondii* (DUBEY E BEATTIE, 1988; SIBLEY E BOOTHROYD, 1992; TENTER E JOHNSON, 1997).

T. gondii apresenta ciclo de vida facultativamente heteroxênico: os hospedeiros intermediários são provavelmente todos os animais de sangue quente, incluindo a maioria dos animais de produção e os humanos. Os hospedeiros definitivos são os membros da família Felidae (DUBEY et al. 1970; LÜDER E GROSS, 1998; SUKTHANA, 2006). Pode ser encontrado em três estágios distintos: taquizoítos, bradizoítos (contidos em cistos teciduais) e esporozoítos (em oocistos esporulados) (DUBEY et al., 1970; DUBEY et al., 1998; DUBEY, 2004; MONTOYA E LIESENFELD, 2004). Essas três formas apresentam organelas citoplasmáticas características do filo Apicomplexa que constituem o complexo apical: conóide, anéis polares, microtúbulos subpeliculares, roptrias, micronemas e grânulos densos (SOLDATI E MEISSNER, 2004; DUBEY, 2008).

Os taquizoítos (Figura 1 e 2) são formas de multiplicação rápida em quaisquer células do hospedeiro intermediário e nas células do epitélio intestinal do hospedeiro definitivo, presentes em grande número nas infecções agudas. Apresentam formato de meia lua e medem cerca de 6 µm de comprimento por 2 µm de largura. Entram na célula hospedeira por penetração ativa e após a entrada, se tornam ovóides e envoltos por um vacúolo parasitóforo, o qual se acredita ser derivado de moléculas do parasito e da célula hospedeira (HILL et al., 2005). No interior do vacúolo parasitóforo, os taquizoítos se encontram protegidos dos mecanismos de defesa da célula (DUBEY, 2008). Multiplicam-se assexuadamente dentro da célula hospedeira por repetidas endodiogenias até a ruptura celular. Este processo continua até o

desenvolvimento da imunidade do hospedeiro frente ao parasito (HILL et al., 2005; DUBEY, 2008; BLADER E SAEIJ, 2009).

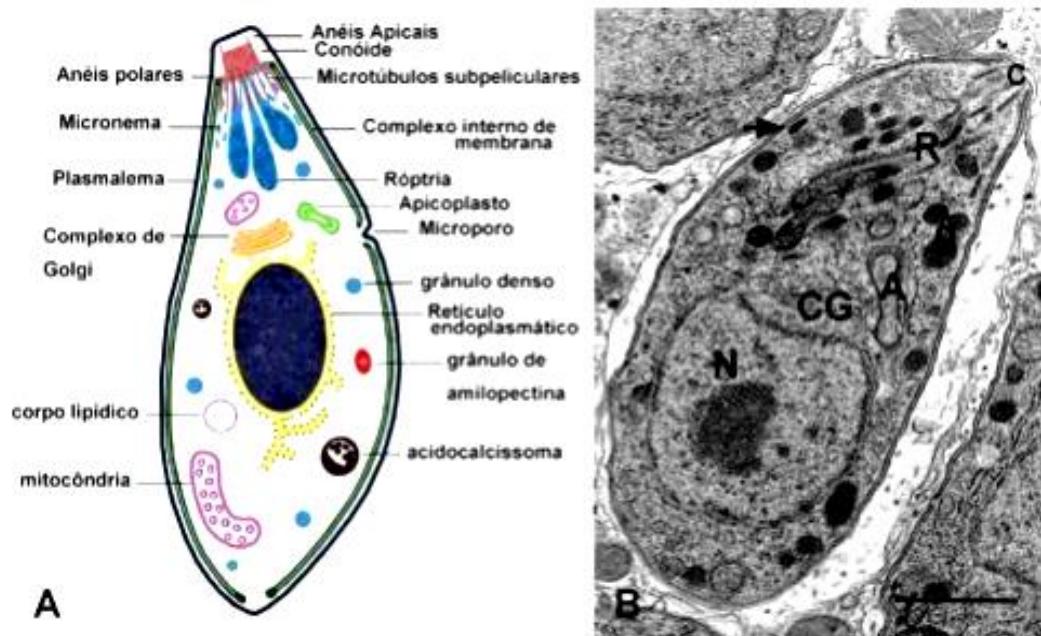


Figura 1. Morfologia geral do taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. (A) Representação esquemática. O esquema foi constituído a partir de cortes aleatórios do parasito observados em microscopia eletrônica de transmissão. (B) corte longitudinal onde várias das estruturas representadas em (A) estão assinaladas: N – Núcleo, c – conóide, R – róptrias, A – apicoplasto, CG – Complexo de Golgi, g – grânulo denso, seta – micronema. Barra 1 μ m. (Souza et al., 2010).

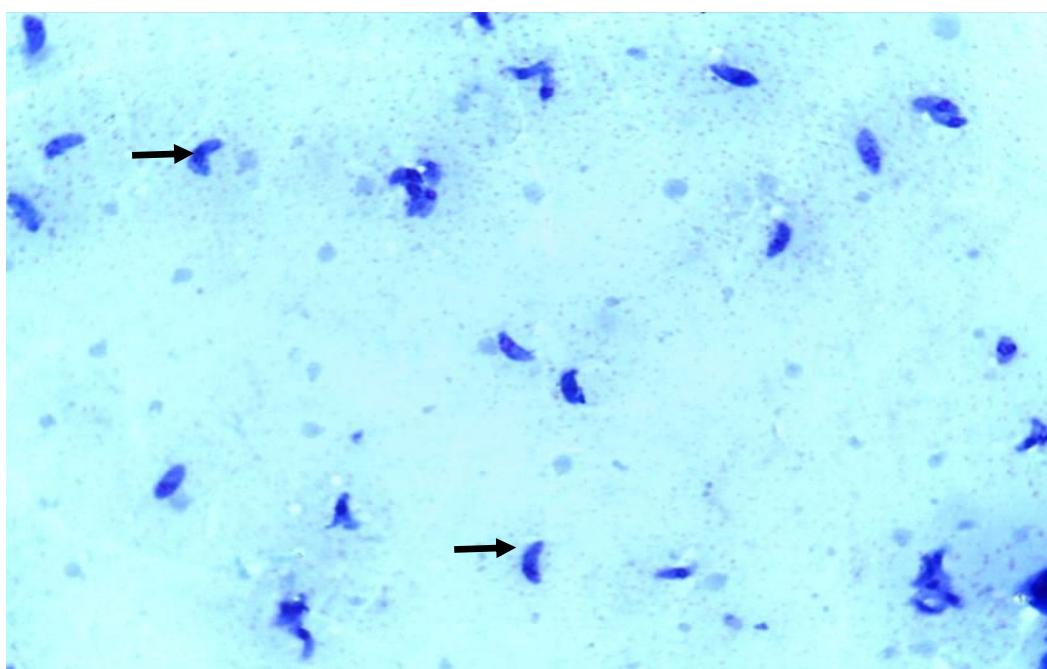


Figura 2. Taquizoíto de *Toxoplasma gondii* em lavado peritoneal de camundongos Balb/c, corados por Panótico, com aumento de 1000 vezes em imersão. Fonte: Arquivo do autor.

A infecção é estabelecida após algumas divisões. A seguir, os parasitos formam cistos teciduais, de aproximadamente 5 a 70 µm de diâmetro, podendo chegar a 300 µm com centenas de bradizoítos em seu interior (Figura 3) (DUBEY, 1998; INNES, 2010). Estes se alojam no interior dos tecidos por longos períodos ou pela vida toda do hospedeiro, sem que cause resposta inflamatória ou dano tecidual de forma significativa. São morfologicamente idênticos aos taquizoítos, exceto pela multiplicação mais lenta, pela localização do núcleo na parte posterior do parasito e por numerosos micronemas e grânulos de amilopectina. Medem cerca de 7 µm por 1,5 µm e são mais resistentes a enzimas proteolíticas do que os taquizoítos. Estas formas estão presentes nas infecções crônicas e congênitas e, embora cistos teciduais contendo bradizoítos possam se desenvolver no pulmão, fígado e rim, são mais prevalentes em tecidos neurais e musculares (cérebro, coração, músculo esquelético e retina) (HILL et al., 2005). A variação no tamanho depende do estágio do cisto, da célula hospedeira parasitada e do número de bradizoítos em seu interior (WEISS E KIM, 2000; MONTOYA E LIESENFELD, 2004).

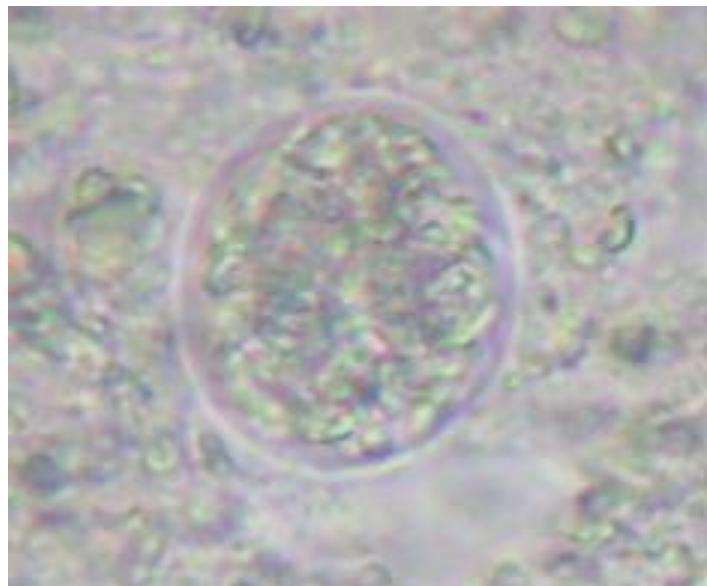


Figura 3. Cisto de *Toxoplasma gondii* em macerado de cérebro de camundongo Balb/c, infectado com a cepa ME49, ampliação de 400 vezes. Fonte: Rezende, 2015.

Os oocistos são formas resultantes do ciclo sexuado e somente ocorrem no trato gastrointestinal dos felídeos com primo-infecção. Medem em torno de 10 µm por 12 µm e são eliminados ainda não esporulados pelas fezes dos gatos (Figura 4). São as formas de maior resistência no meio ambiente e tornam-se infectantes após a

esporulação que ocorre de três a cinco dias de acordo com as condições ambientais. Os oocistos esporulados contêm dois esporocistos que abrigam em seu interior quatro esporozoítos cada. Os esporozoítos medem, em média, cerca de 6 µm por 2 µm. Os oocistos esporulados podem permanecer viáveis no meio ambiente por um período de até 18 meses (HILL E DUBEY, 2002; MONTOYA E LIESENFELD, 2004; KRAVETZ E FEDERMAN, 2005).

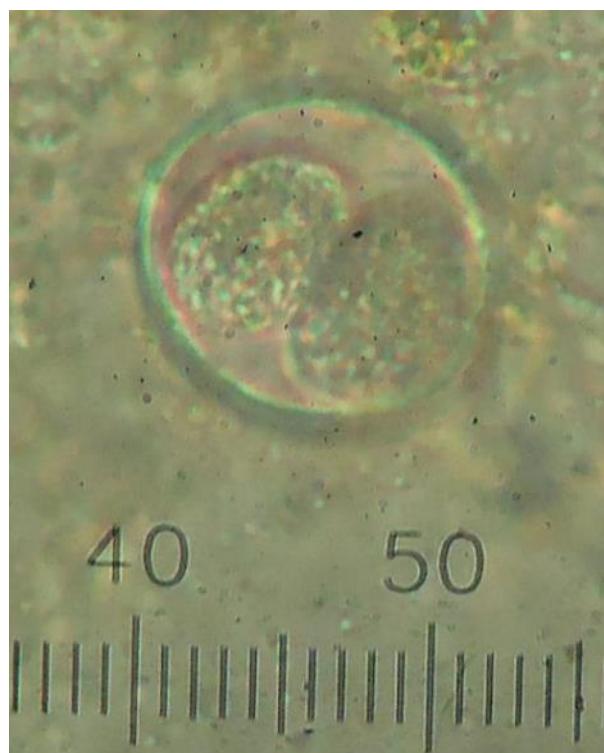


Figura 4. Oocisto esporulado de *Toxoplasma gondii* esporulado em material a fresco, aumento de 400 vezes. Régua micrométrica na escala de 1µm (Rezende, 2015).

Os gatos e outros felídeos eliminam grande número de oocistos após infecção primária (primo-infecção), geralmente a eliminação dura de uma a duas semanas (DUBEY, 1994; TENTER et al, 2000). Em um único dia, milhões de oocistos podem ser eliminados e estes podem sobreviver no meio-ambiente por mais de um ano (DUBEY E BEATTIE, 1988), o que resulta na contaminação do ambiente, sendo os gatos domésticos a maior fonte de contaminação ambiental, pois, uma simples defecação do gato pode conter em torno de 10 milhões de oocistos. Oocistos não esporulados podem sobreviver pelo menos três meses no meio ambiente e conservar sua capacidade de infectar, quando colocados sob condições apropriadas (DUBEY E BEATTIE, 1988; LINDSAY et al., 2002).

Este parasito apresenta um complexo ciclo de vida e foi descrito somente em 1970, quando se descobriu que os hospedeiros definitivos são membros da família Felidae, incluindo o gato doméstico (FRENKEL et al., 1970).

O ciclo de *T. gondii* é heteroxeno (Figura 5), e possui duas fases distintas: a fase assexuada ocorre nos tecidos de diversos hospedeiros intermediários incluindo o homem, enquanto a fase sexuada do parasito ocorre no felídeo não imune que adquire a infecção pela ingestão de oocistos, cistos teciduais ou taquizoítos. O ciclo sexuado ocorre nas células intestinais com formação e fertilização dos gametócitos e formação do zigoto. Este origina o oocisto imaturo que posteriormente é liberado após rompimento celular, sendo eliminado nas fezes após uma ou duas semanas de infecção. Os oocistos imaturos, não infectantes, sob condições ideais de temperatura, umidade e oxigênio, esporulam e podem sobreviver de 12 a 18 meses no solo desde que mantidas tais condições (REY, 2001; MONTOYA E LIESENFELD, 2004; LAPPIN, 2010).

Nos hospedeiros intermediários, a infecção pode se dar pela ingestão de oocistos esporulados encontrados no solo, verduras, água contaminada e por carnes mal cozidas ou cruas contendo cistos com bradizoítos. Os esporozoítos penetram no intestino do hospedeiro e iniciam um processo de multiplicação assexuada dentro do vacúolo parasitóforo denominado endodiogénia, processo pelo qual cada núcleo divide-se formando duas células-filhas e o resto da célula mãe se degenera. Estes se multiplicam rapidamente até a ruptura da célula hospedeira liberando os taquizoítos para invadir outras células. Com o desenvolvimento da resposta imune efetiva, ocorre a lise de taquizoítos extracelulares, por meio de uma combinação de anticorpos e complemento (BEAMAN et al., 1995), porém alguns parasitos intracelulares podem persistir por algum tempo na medula espinhal ou no cérebro (DUBEY, 1993). Em casos de comprometimento do sistema imunológico, principalmente em pacientes HIV positivos, os bradizoítos contidos nos cistos teciduais, podem transformar-se em taquizoítos, provocando a reagudização da doença (SUZUKI, 2002; KAWAZOE, 2003; KIM E WEISS, 2008).

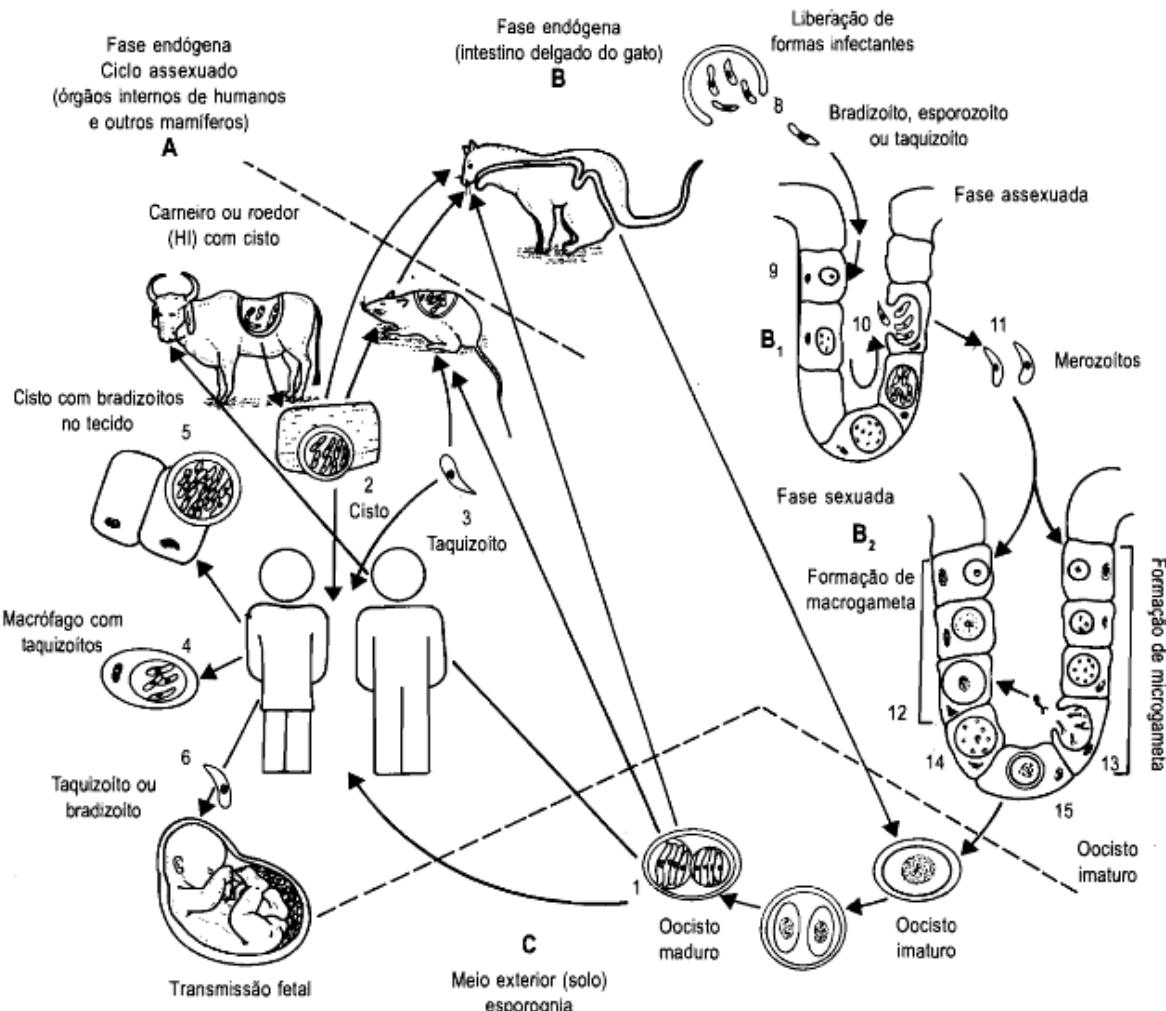


Figura 5. Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* (Kawazoe, 2003).

1.4. EPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE

A toxoplasmose é uma zoonose altamente disseminada, com taxas de prevalência variáveis em diversas regiões do mundo (JONES et al., 2007; DUBEY et al., 2012). A incidência da doença está sujeita às variações próprias de cada região, como o tipo de clima, hábitos culturais e alimentares de determinadas populações, sendo que a soropositividade aumenta com a idade, mas não varia entre os sexos (REMINGTON et al., 2005; JONES et al., 2007). A infecção afeta cerca de dois bilhões de pessoas no mundo (PETERSEN E DUBEY, 2001; MONTOYA E LIESENFELD, 2004; PEREIRA-CHIOPCOLA et al., 2009; MACHADO et al, 2016).

Nos Estados Unidos e no Reino Unido, estima-se que cerca de 16 a 40% da população esteja infectada. Na Espanha esta estimativa é de aproximadamente 60% e na França de 75-90% (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; HILL et al., 2005). No Brasil, a prevalência sorológica de infecção por *T. gondii* é alta, variando em torno de 50 a 80% na população adulta (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; PAPPAS et al., 2009). A Organização Mundial da Saúde (PAHO; WHO, 2008) estimou, em 2008, que um terço da população mundial estivesse infectado por *T. gondii* em sua forma crônica.

Em Goiás, a prevalência de gestantes infectadas por *T. gondii* encontrada por Giffoni et al., (2007) foi de 74%, Sartori et al., (2011) de 67,7% e Avelar (2013) de 68,1%. A prevalência de *T. gondii* em indivíduos imunocomprometidos foi de 65% em Goiânia-GO (BARBOSA et al., 1996).

A toxoplasmose é assintomática em 80 a 90% dos indivíduos imunocompetentes apresentando evolução benigna. A linfadenopatia é a manifestação mais comum em 10 a 20% destes indivíduos podendo ser acompanhada de febre, astenia e mialgia (MONTOYA E LIESENFELD, 2004; REMINGTON, 2004). Os sinais clínicos incluem alterações oculares, podendo levar a cegueira; problemas reprodutivos como abortos, má formações fetais, hidrocefalia, neuropatias e alterações neuromusculares. Nos animais podem ser observadas alterações reprodutivas como abortos ou natimortos; alterações neuromusculares e oculares, até cegueira (BRINKER et al., 2009).

1.5. IMPORTÂNCIA DO GATO NA EPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE

Em animais, a toxoplasmose raramente causa sintomatologia evidente ou morte, apresentando-se de forma inaparente, dependendo de fatores, como a idade do animal, a via de infecção, a espécie infectada e a virulência intrínseca da linhagem (TENTER et al., 2000).

Ressalta-se a importância dos animais de produção na epidemiologia da enfermidade, pois são uma importante fonte de infecção para os seres humanos. Dentre as diversas espécies animais, os caprinos, ovinos e suínos são mais sensíveis à infecção por *T. gondii* quando comparados aos bovinos, equinos e aves, os quais raramente apresentam sintomatologia (MILLAR et al., 2008).

Infecções latentes com *T. gondii* são comuns em gatos domésticos e selvagens

em todo o mundo (LUKEŠOVÁ E LITERÁK, 1998). Em Goiânia-GO, a prevalência de gatos errantes infectados por *T. gondii* em 2015 foi de 18,27%, e a soroprevalência para anticorpos anti-*T. gondii* analisada em um grupo de 50 animais, foi de 64% (REZENDE, 2015). Tem sido relatado que pelo menos 17 espécies de felinos selvagens disseminam oocistos de *T. gondii* (LUKEŠOVÁ E LITERÁK, 1998; RAMOS SILVA et al., 2001; DEMAR et al., 2008).

O gato doméstico é o único animal domiciliado apontado como hospedeiro definitivo para *T. gondii* (DUBEY, 1996). Os felídeos podem se infectar ingerindo oocistos do ambiente ou ingerindo cistos teciduais de hospedeiros intermediários, quando alimentados com restos de alimentos contendo carne ou vísceras de animais de produção ou de caça, ou quando são permitidos caçarem pequenos mamíferos ou pássaros infectados (MEIRELES et al., 2004; DE CRAEYE et al., 2008). Dependendo da espécie hospedeira, a área geográfica e a estação do ano, até 73% dos pequenos roedores e até 71% dos pássaros silvestres podem estar infectados com *T. gondii* (SUKTHANA, 2006).

Os gatos geralmente disseminam grandes quantidades de oocistos após uma infecção primária por até duas semanas. Uma segunda disseminação somente ocorre nos casos de queda da imunidade desses animais (DUBEY, 1996). Em gatos domésticos, anticorpos para *T. gondii* podem ser detectados em até 74% da população adulta, dependendo do tipo de alimentação e se são mantidos dentro ou fora de casa (TENTER et al., 2000; SUKTHANA, 2006; DE CRAEYE et al., 2008). As soroprevalências são maiores em gatos de rua e em gatos selvagens quando comparados com gatos que vivem em ambiente doméstico, já que estes geralmente ingerem alimentos industrializados, reduzindo o risco de infecção (MEIRELES et al., 2004; MIRÓ et al., 2004). Por isso, os gatos de rua têm sido apontados como potenciais sentinelas da contaminação ambiental por *T. gondii* em áreas urbanas, estando expostos a todas as formas infectantes do parasita (MEIRELES et al., 2004).

A doença clínica no animal não é muito frequente, mas os sinais e sintomas clínicos incluem: febre intermitente, apatia, tosse, dispneia, letargia, anorexia, vômito, icterícia, diarreia, alterações miocárdicas, hiperestesia muscular, alterações neurológicas e oculares. Fatores iatrogênicos que podem alterar o sistema imune, como a administração de corticosteroides, ou a infecção do vírus da imunodeficiência felina (FIV) podem reativar a infecção latente levando a quadros de toxoplasmose aguda (OLAFSON E MONLUX, 1942, MEIER et al., 1957; PETRAK E CARPENTER,

1965; MCKINNEY, 1973; DUBEY, 1986; WITT et al., 1989; HEIDEL et al., 1990; BIRCHARD E SHERDING, 2003).

O diagnóstico da toxoplasmose nos gatos deve ser baseado em uma combinação de sinais clínicos, testes sorológicos, demonstração histopatológica do parasito nos tecidos, prova biológica em camundongos e exame de fezes para o encontro de oocistos. O diagnóstico da toxoplasmose clínica é difícil por apresentar sinais clínicos variados e inespecíficos. O exame histopatológico é limitado, enquanto a imunohistoquímica é indicada por apresentar elevada especificidade e sensibilidade (SPARKERS, 1991; LINDSAY et al., 1997).

1.6. CONCEITO “ONE HEALTH”

O conceito One Health (“uma só saúde” ou “saúde única”) consiste em uma estratégia mundial que foi adotada pela *World Organisation for Animal Health* (OIE). Essa estratégia tem como objetivo a colaboração interdisciplinar entre entidades ou organismos de todos os temas que se relacionam com a saúde das pessoas ou animais, refere-se a uma relação animal/Homem/meio ambiente. Este conceito torna-se importante pelo fato da maioria das doenças infeciosas emergentes serem zoonoses. Este implica ainda a aplicação de práticas corretas tais como a prevenção, vigilância e detecção de zoonoses bem como a notificação das mesmas (DÍEZ, 2015).

A “Saúde Única” foi criada para melhor compreender e resolver os problemas contemporâneos de saúde criados pela convergência humana, animal e ambiental. Esta abordagem vem incentivar a atuação conjunta de várias disciplinas de trabalho a nível local, nacional e globalmente, para atingir saúde ótima das pessoas, dos animais e do nosso ambiente. (AVMA, One Health, 2008). O movimento da Saúde Única adota uma política que advoga o estreitamento de laços entre a medicina humana e a veterinária, convidando ambas profissões para ações colaborativas e investigativas que auxiliem a avaliação, o tratamento e a prevenção das doenças de transmissão inter-espécies. Além disso, estimula a discussão de estratégias, que reforcem a colaboração entre essas duas profissões, na educação médica, cuidados clínicos, na saúde pública e na investigação biomédica (AVMA, ONE HEALTH, 2008).

Os benefícios da Saúde Única envolvem a melhoria da saúde animal e humana a nível mundial por meio da colaboração entre todas as ciências da saúde,

especialmente entre as múltiplas profissões: medicina veterinária, medicina humana, saúde ambiental, saúde da vida selvagem e de saúde pública, para tratar de temas cruciais; reunião e discussão sobre os novos desafios globais; o desenvolvimento de centros de excelência para a educação e formação em áreas específicas, através de uma maior colaboração entre faculdades e escolas de medicina veterinária, de medicina humana e de saúde pública e a utilização do conhecimento científico veterinário na elaboração de programas inovadores que contribuam para a melhoria da saúde. (AVMA, ONE HEALTH, 2008).

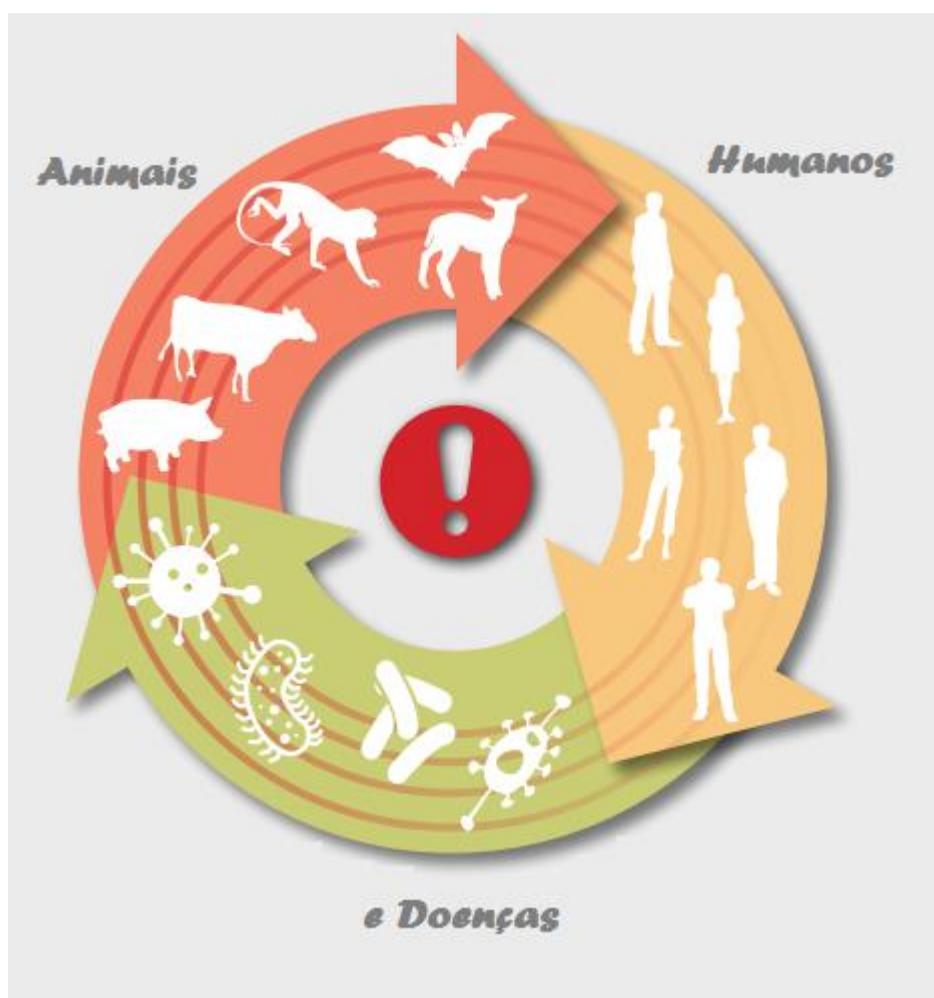


Figura 6. Modelo demonstrativo do “One Health”. Adaptado. Disponível em: <http://www.oie.int/en/for-the-media/onehealth/>

1.7. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE PARASITOS ENTÉRICOS

A maioria das doenças parasitárias não pode ser diagnosticada apenas pelos exames médicos, já que o diagnóstico acurado das parasitoses intestinais é uma tarefa difícil, por isso torna-se necessário a realização do exame laboratorial parasitológico como método de auxílio para a identificação do agente etiológico. Desta forma, a demonstração morfológica do(s) estágio(s) de diagnóstico é o principal meio para estabelecer uma diagnose diferencial e definitiva. Investigações laboratoriais tornam-se necessárias para definir se o paciente está ou não infectado com o parasito e, se estiver, qual a espécie do mesmo. O laboratório desempenha um papel importante no diagnóstico das doenças parasitárias, sendo a chave para a seleção do medicamento adequado ao tratamento (DE CARLI, 2001; MACHADO et al., 2008; REZENDE et al., 2015).

Para o estudo coproparasitológico e o diagnóstico definitivo das parasitoses, atualmente estão disponíveis inúmeros métodos qualitativos de diagnóstico laboratorial. No entanto, esses testes ainda recebem críticas devido às limitações que apresentam no que diz respeito à execução da técnica, à baixa sensibilidade e até mesmo em relação ao custo para a realização. Estas limitações acabam por restringir a utilização de alguns métodos na rotina de laboratórios de análises clínicas particulares, públicos e até em trabalhos de pesquisa acadêmica (GONÇALVES et al., 2016).

A utilização de métodos laboratoriais específicos, sensíveis e de baixo custo operacional é de grande importância para o diagnóstico das parasitoses intestinais, tornando-se imprescindível à demonstração dos parasitos nas fezes. Por tratar-se de um exame relativamente rápido e de baixo custo, o exame parasitológico de fezes é amplamente utilizado na rotina laboratorial para demonstração dos parasitos gastrointestinais por microscopia ótica. O diagnóstico de enteroparasitos é feito principalmente pela pesquisa de oocistos e ovos nas fezes para a detecção de protozoários e helmintos (MACHADO et al., 2008).

A realização do exame parasitológico das fezes (EPF) revela-se como um importante procedimento em laboratórios de análises clínicas, uma vez que indicará o nível do parasitismo, bem como o tratamento específico para as infecções parasitárias. O emprego de métodos confiáveis constitui um valioso recurso para o diagnóstico individual e também para inquéritos parasitológicos (MENDES et al.,

2005). Nesse sentido, é fundamental avaliar quais métodos laboratoriais apresentam maior especificidade, maior sensibilidade e que demandam menos recursos financeiros.

Das técnicas empregadas rotineiramente, o exame direto a fresco e a técnica de Hoffman, Pons e Janer ou Lutz (HPJL) são os métodos mais utilizados (HOFFMAN et al., 1934). Segundo De Carli (2001) estas técnicas possuem como principal vantagem a necessidade mínima de materiais e recursos financeiros e desvantagem de apresentar uma grande quantidade de detritos fecais no sedimento, dificultando a preparação e o exame microscópico. Táparo et al. (2006), também destacam a técnica de Willis (1921), tradicionalmente utilizada para ovos leves, relatada por diversos autores por apresentar ótimos resultados em pesquisas de ovos e oocistos.

Segundo De Carli (2001), a escolha da técnica dependerá do grau de confiabilidade e de sensibilidade do método, além de necessitar de recursos menos onerosos. A utilização combinada de vários métodos é útil para detectar infecções intestinais causadas por parasitos, principalmente helmintos e protozoários, aumentando a acurácia do diagnóstico laboratorial (MENEZES et al., 2013; REZENDE et al., 2015).

1.8. A COPRO-PCR NO DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii*

A necessidade de métodos diagnósticos mais precisos e sensíveis fez com o que o estudo do material genético assumisse uma nova perspectiva para o sucesso diagnóstico e uma nova vertente a ser explorada para os vários microrganismos, a partir da criação e apresentação da técnica de PCR à comunidade científica em 1985 por Kary Mullis, incluindo *T. gondii* (MULLIS et al., 1987). Porém, é importante enfatizar que a detecção molecular do DNA de *T. gondii* não substitui os métodos diagnósticos tradicionais no diagnóstico da doença. Assim, a associação de dois ou mais métodos diagnósticos revela a instalação da infecção e auxilia na discriminação do estágio da mesma (KOMPALIC-CRISTO et al., 2004).

A PCR também é utilizada no diagnóstico diferencial, como exemplo, o complexo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, duas espécies morfologicamente idênticas e biologicamente distintas. Logo, foi necessário o uso de outras ferramentas que pudessem confirmar a infecção por *E. histolytica*, visto que o diagnóstico do

parasito através da microscopia de luz permite só a observância da morfologia do amebídeo (SOBKÝ et al., 2011). Essa constatação levou a OMS a interferir e recomendar que a identificação de *E. histolytica* deve ser por métodos específicos, como a Copro-PCR (VIEIRA, 2004).

O diagnóstico diferencial através da Copro-PCR é importante para a identificação de oocistos de coccídeos de gatos presentes nas fezes, tais como aqueles de *Hammondia hammondi*, que não podem ser diferenciados microscopicamente de *T. gondii* (SALANT et al., 2007; JUNG et al., 2015). Os métodos moleculares de coprodiagnóstico apresentam uma detecção de parasitos superior aos métodos parasitológicos convencionais (SINGH, 1997; ORLANDI E LAMPEL, 2000, ABASSI et al, 2003).

A extração de DNA a partir de oocistos tem sido previamente reportada pela sua dificuldade, devido à tenaz parede do oocisto dos coccídeos (DUBEY et al., 1998; ZHAO et al., 2001; BELLI et al., 2006). O método empregado no presente estudo permite a ruptura dos oocistos usando uma combinação de meios mecânicos (fervura por 20 minutos e *over-night* em estufa a 37°C). Os protocolos para reação de PCR ainda não são padronizados, pois há vários alvos (primers) que podem ser utilizados, sendo que os primers B5 e B6 são produzidos a partir do gene B1 de *T. gondii*, sendo mais utilizados quando se trata de diagnósticos (JUNG et al., 2015).

2 JUSTIFICATIVA

Os gatos domésticos representam os animais de estimação que mais convivem com o homem, prestando valioso auxílio como companhia e guarda. Todavia, quando portadores de parasitos, esses animais representam risco de contaminação, sendo que o contato desses animais infectados com o homem é considerado um problema de saúde pública pela possibilidade de transmissão de zoonoses (MOOJEN, 1976; TESSEROLLI et al., 2005).

Os gatos são hospedeiros definitivos de algumas espécies de parasitos zoonóticos, e o crescente número de animais domiciliados, peridomiciliados e errantes, de modo geral, em todo o Brasil, associado ao fácil acesso destes locais de lazer, como praças públicas e praias, têm aumentado o risco de infecção, especialmente para crianças, constituindo um problema de saúde pública (SANTAREM et al., 1998; SCAINI et al., 2003; CASTRO et al., 2005).

Os gatos errantes geralmente são responsáveis pela contaminação ambiental, como descrito por vários trabalhos, porém os gatos domiciliados também podem ser responsáveis tanto pela contaminação ambiental como pela convivência próxima ao ser humano, neste aspecto poucos estudos compararam o potencial zoonótico destes dois grupos de animais. Portanto, é de extrema importância conhecer a prevalência dos parasitos com potencial zoonótico em gatos errantes e domiciliados, já que esses animais têm papel de destaque nessas zoonoses, podendo auxiliar nas medidas de controle, como a adoção de medidas terapêuticas e preventivas em relação à população felina, minimizando-se, assim, os riscos de transmissão dessas parasitoses a outros hospedeiros.

Os grupos de gatos estudados, errantes e domiciliados, são de extrema relevância, pela escassez de trabalhos comparando o parasitismo entre os grupos, e por mostrar que ambos os grupos podem ser importantes fontes de infecção por parasitos entéricos para o homem e outros animais.

T. gondii é um protozoário de prevalência mundial, com registros em todos os continentes e em todos os climas devido à transmissão por oocistos liberados nas

fezes dos gatos. Os felídeos urbanos (gatos) e selvagens são os únicos animais que podem realizar o ciclo sexuado, eliminando após a primo-infecção milhões de oocistos imaturos são liberados nas fezes, sendo que o gato é capaz de eliminar cerca de 10 milhões de oocistos em uma única defecação. Tornando-se uma importante fonte de contaminação ambiental e transmissão da Toxoplasmose (DUBEY E BEATTIE, 1988; LINDSAY et al., 2002).

Por serem os hospedeiros definitivos de *T. gondii*, os felídeos apresentam importante papel na epidemiologia da toxoplasmose (DUBEY, 1986), uma vez que contaminam águas, pastagens e solo, com oocistos eliminados pelas suas fezes (MANAIR et al. 1996; VAN DER PUIJE et al. 2000; PLANT et al., 1974; COUTINHO et al., 1982). Assim, a presença de gatos errantes pode ser um fator que contribui para elevada prevalência, podendo contaminar o meio ambiente com milhares de oocistos (KAWAZOE, 2003).

Devido à possibilidade de transmissão de parasitos entéricos pelos gatos, e o seu papel na contaminação do ambiente, é necessária a utilização de técnicas laboratoriais que apresentem boa sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade para diagnosticar tais parasitos. Assim, a avaliação da acurácia de diferentes técnicas parasitológicas permite determinar a concordância e reprodutibilidade para a aplicação destas técnicas no laboratório veterinário. A utilização de técnicas apropriadas dará resultados fidedignos da real prevalência de parasitos entéricos na população estudada.

A Copro-PCR é importante para a confirmação da infecção por *T. gondii*, por ser um método mais sensível e mais preciso, também é utilizada no diagnóstico diferencial de coccídeos, pois existem espécies morfologicamente semelhantes, e que são diferenciadas apenas por técnicas moleculares, como exemplo, *T. gondii* e *H. hammondi*. A Copro-PCR não substitui as técnicas convencionais, mas deve ser associada a outros métodos diagnósticos para detecção do parasito e diagnóstico da infecção (KOMPALIC-CRISTO et al., 2004)

3 OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar a prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes e domiciliados de Goiânia – Goiás no período de março de 2015 a maio de 2016. Analisar a acurácia de diferentes métodos laboratoriais para o diagnóstico de helmintos e protozoários entéricos de importância para a medicina veterinária e humana. Verificar a performance da Copro-PCR no diagnóstico de oocistos de *T. gondii*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia – Goiás e por uma Organização Não Governamental protetora de animais e de gatos domiciliados de Goiânia —Goiás, por diferentes técnicas parasitológicas (Faust, Hoffman-Pons-Janer ou Lutz, Sheather e Willis).
- Comparar a frequência de parasitos entéricos encontrados nos dois grupos analisados, gatos errantes e domiciliados.
- Avaliar a acurácia dos diferentes métodos parasitológicos de fezes para a detecção de parasitos entéricos, utilizando como padrão ouro a técnica de Willis.
- Avaliar a performance da Copro-PCR para confirmação do diagnóstico parasitológico convencional e diagnóstico diferencial de oocistos de *T. gondii*.

4 MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia - Goiás e por uma Organização Não Governamental protetora de animais e em gatos domiciliados de Goiânia – Goiás no período de março de 2015 a maio de 2016.

Avaliação da acurácia de testes diagnósticos, para determinar a técnica parasitológica que apresente melhor desempenho, por meio da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e índice *kappa* (*k*) dos testes parasitológicos utilizados.

4.2. DESCRIÇÃO DO GRUPO DE ESTUDO

O projeto foi apreciado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa para animais/CEUA da Universidade Federal de Goiás, sob os protocolos 054/2013 e 024/2016 (ANEXOS 1 E 2).

Foram analisados dois grupos de gatos de idades variadas e ambos os sexos, procedentes de Goiânia-Goiás, os quais foram divididos em dois grupos: domiciliado ou errante. Os animais domiciliados viviam em casas ou apartamentos com seus donos e os gatos errantes foram capturados pelo CCZ de Goiânia-GO e por uma ONG protetora de animais.

4.3. COLETA DAS AMOSTRAS FECAIS

Foram coletadas 65 amostras de fezes de gatos errantes capturados pelo CCZ de Goiânia-GO e por uma Organização Não Governamental protetora de animais e 84 amostras de gatos domiciliados em Goiânia-GO, sendo um total de 149 amostras. O período de coleta das amostras foi de março de 2015 a maio de 2016. As amostras fecais dos gatos errantes oriundos do CCZ foram coletadas diretamente das gaiolas coletivas dos animais, as amostras dos animais da ONG protetora de animais foram coletadas diretamente das gaiolas individuais dos animais, antes que fosse realizada a vermiculação destes, e as amostras dos animais domiciliados foram coletadas pelos proprietários. Todas as amostras coletadas foram armazenadas em coletores universais estéreis.

4.4. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS FECAIS

O processamento das amostras fecais foi realizado na sala de experimentação, que é higienizada diariamente com solução de hipoclorito nas bancadas, e possui sistema de exaustão para retirada de partículas do ar.

Para a identificação de oocistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos nas amostras fecais dos gatos foram empregadas quatro técnicas parasitológicas, técnica de Sheather, Hoffman-Janer-Pons ou Lutz (HPJL), Faust e Willis, sendo a técnica de Willis considerada a padrão ouro para este estudo, devido a sua capacidade de detecção de ovos e larvas de helmintos e na detecção de oocistos de coccídeos, em especial oocistos de *T. gondii* (REZENDE et al., 2015).

4.4.1. Método de Sheather (1923)

O método de Sheather possui como princípio a flutuação em solução saturada de sacarose, isso aumenta a sensibilidade e diminui os artefatos fecais. A técnica é utilizada principalmente para a pesquisa de ovos leves como de Ancilostomídeos e para a pesquisa de oocistos como os de *Cystoisospora* sp. e de *T. gondii* (SHEATHER, 1923).

4.4.1.1. Material utilizado

- Dois gramas de fezes;
- Solução de Sheather, na densidade de 1,2 g/mL;
- Solução fisiológica de NaCl à 0,9%;
- Gazes;
- Lâmina e lamínula de vidro;
- Bastão de vidro ou palitos descartáveis de madeira;
- Béquer (capacidade 100mL);
- Microscópio óptico;
- Tubos para centrífuga de 10mL;
- Pipeta automática 20µL;
- Centrífuga para tubos de 10mL.

4.4.1.2. Preparação da solução de Sheather, densidade 1,2 g/mL

- 500 g de sacarose
- 6,5 g de fenol (Fundido a 44°C)
- 320mL de água destilada

A solução de sacarose foi fervida até ocorrer à clarificação, então o fenol foi adicionado. Em seguida a solução foi colocada em temperatura ambiente até seu resfriamento para o uso.

4.4.1.3. Procedimento técnico

- A amostra fecal foi colocada em béquer com auxílio do bastão;
- Em seguida a amostra foi misturada com solução fisiológica, até ocorrer à fluidificação;
- Peneirou-se com o auxílio das gazes, para obter um material mais límpido;
- Os tubos plásticos de 10mL foram preenchidos até a metade com a suspensão filtrada;
- Adicionou-se uma quantidade igual da solução de Sheather;
- Realizou-se uma homogeneização do tubo por inversão;
- O tubo foi levado para centrifugação durante 5 minutos a 2500 RPM;

- Após centrifugação, a camada superficial do material foi retirada com o auxílio de uma pipeta automática de 20 μ L, foram montadas três lâminas para cada amostra;
- As lâminas foram examinadas ao microscópio óptico nos aumentos de 200x e 400x.

4.4.2. Método de Faust e Colaboradores (1938)

A técnica de Faust é baseada no princípio da centrifugo-flutuação em solução de sulfato de zinco ($ZnSO_4$), à 33% com densidade de 1,18 g/mL. Pela diferença na densidade específica entre os ovos de helmintos, cistos de protozoários do material fecal, onde esses organismos flutuam para a superfície do tubo. A técnica de Faust é utilizada para o diagnóstico de cistos de protozoários, e também possui bastante utilidade para a pesquisa de ovos leves de helmintos (FAUST et al., 1938).

4.4.2.1. Material utilizado

- Dois gramas de fezes;
- Água destilada;
- Solução de sulfato de zinco à 33 % (densidade 1,18 g/mL);
- Solução de lugol;
- Lâmina e lamínula de vidro;
- Copos plásticos descartáveis;
- Pipeta automática de 20 μ L;
- Bastão de vidro ou palitos descartáveis de madeira;
- Peneira;
- Microscópio óptico;
- Centrífuga e tubos plásticos de (10mL).

4.4.2.2. Preparação da solução de Sulfato de Zinco, densidade 1,18 g/mL

- Sulfato de Zinco ($ZnSO_4$): 330 g
- Água destilada: 600 mL

Adicionar o $ZnSO_4$ em água e agitar bem. A densidade é crítica nesse reagente, devendo em alguns casos ser ajustada.

4.4.2.3. Procedimento técnico

- As fezes foram homogeneizadas em 10 mL de água destilada;
- Em seguida a mistura foi peneirada com gazes;
- A suspensão foi colocada em um tubo de centrífuga com capacidade para 15 mL;
- Centrifugou-se o filtrado durante 2 minutos a 2500 RPM;
- Desprezou-se o sobrenadante e reteu-se o sedimento;
- Adicionou-se ao sedimento 10 mL de água destilada;
- A operação foi repetida por 2 a 3 vezes até que o sobrenadante ficasse límpido;
- O sobrenadante foi descartado retendo apenas o sedimento;
- Completou-se o volume do tubo com a solução de sulfato de zinco até chegar a 1 cm da borda do tubo;
- O tubo foi centrifugado durante 1 minuto a 2500 RPM. Após esse processo, tubos ficaram em repouso por 5 minutos;
- Coletou-se com a pipeta a película superficial, onde montamos três lâminas de cada amostra;
- As lâminas foram examinadas no microscópio adicionando uma gota de lugol ao sedimento, no aumento de 200X e 400X.

4.4.3. Método de Hoffman, Pons e Janer ou Lutz (1934/1919)

Fundamenta-se na sedimentação espontânea em água (combinação da gravidade e da sedimentação). É utilizado para evidenciar ovos pesados de helmintos quando a sedimentação permanecer por um período de no mínimo duas horas. Para cistos e ovos leves o indicado é o período de 24 horas. É o método de rotina utilizado nos laboratórios quando não é solicitada metodologia específica (HOFFMAN et al., 1934).

4.4.3.1. Material utilizado

- 10 gramas de fezes;
- Copo plástico descartável;
- Microscópio;
- Lugol;
- Canudo (também pode ser usada uma pipeta graduada);

- Água destilada; Cálice de Sedimentação; Tamis com gazes.

4.4.3.2. Procedimento técnico

- As fezes foram diluídas com água destilada;
- Em seguida o material diluído foi passado na tamis deixando descansar no cálice de sedimentação;
- Recolheu-se o sedimento do fundo do cálice o material com a ajuda de um canudo de plástico;
- Uma gota do material recolhido foi colocada sobre a lâmina colocando uma gota de lugol em cima do material, e coberta com a lamínula;
- Foram montadas três lâminas para cada amostra, que foram observadas no microscópio nos aumentos de 200X e 400X.

4.4.4. Método de Willis (1921)

O método de Willis é um método simples e eficiente pela capacidade de os ovos flutuarem numa solução salina com densidade elevada aderindo a superfície inferior da lâmina, colocada na parte superior do líquido. O método possui como princípio a flutuação para pesquisa de ovos leves como os ovos de Ancilostomídeos, que apresentam baixa densidade específica. A técnica não é indicada para cistos de protozoários, pois os cistos se retraem pela concentração.

4.4.4.1. Material utilizado

- Dez gramas de fezes
- Bastão de vidro;
- Gaze ou peneira;
- Copo plástico descartável de 50 mL;
- Solução de NaCl, densidade 1,20 g/mL;
- Lâminas e lamínulas;
- Microscópio; Lugol.

4.4.4.2. Preparação da solução de NaCl, densidade 1,20 g/mL

- 40 g NaCl;

- 100 mL água destilada.

Realizou-se a mistura dos reagentes e levou-se ao bico de Bunsen até a ebulação. Após resfriar a solução foi filtrada em papel filtro para eliminação dos cristais formados.

4.4.4.3. Procedimento técnico

- A amostra foi emulsionada em solução saturada de cloreto de sódio no copo plástico;
- Após a emulsificação, completou-se até a borda do copo plástico com a solução de NaCl;
- Colocou-se a lâmina de vidro sobre o recipiente para haver o contato com a solução por 5 minutos;
- A lâmina foi invertida, e adicionou-se uma gota de lugol;
- Foi realizada a observação ao microscópio no aumento de 200 X e 400X.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA E ACURÁCIA

Os resultados dos exames parasitológicos foram lançados no banco de dados no programa EpilInfo® versão 3.2.1. Neste programa foi possível realizar a avaliação da prevalência dos parasitos entéricos, a frequência de positividade para cada parasito encontrado, a frequência de positividade para cada técnica parasitológica empregada, e para a avaliação dos testes diagnósticos empregados, como a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e índice *Kappa* (*K*), comparando com a técnica de Willis, que foi adotada neste estudo como padrão-ouro. Os gráficos foram plotados no programa Excel 2007®.

Os cálculos de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e *K* foram calculados em uma tabela de contingência ou tabela 2x2 (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e índice kappa, em tabela de contingência 2x2, segundo PEREIRA, 1995.

TESTE	PADRÃO OURO		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	n

}

Onde:

Sensibilidade: $a/(a+c)$. É a capacidade que o teste diagnóstico apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, de diagnosticar corretamente os doentes.

Especificidade: $d/(b+d)$. É a capacidade que o teste diagnóstico tem de detectar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos sadios.

Valor preditivo positivo: $a/(a+b)$. É a proporção de doentes entre os positivos pelo teste.

Valor preditivo negativo: $d/(c+d)$. É a proporção de sadios (sem a doença) entre os negativos ao teste.

O índice *kappa* (*k*) é uma forma de avaliar a concordância entre técnicas diagnósticas. O *k* informa a proporção de concordância não aleatória entre as técnicas utilizadas, e seu valor varia de "menos 1" (completo desacordo) a "mais 1" (concordância total). Se a medida concorda mais frequentemente do que seria esperado pela chance, então o índice *k* é positivo; se a concordância é completa *k* = 1. Zero indica o mesmo que leituras feitas ao acaso (KRAEMER E BLOCH, 1988). A Tabela 4 demonstra a interpretação do índice *k*:

Tabela 4. Escala de concordância do índice kappa.

Kappa	Concordância
< 0,00	Nenhuma
0,00-0,20	Fraca
0,21-0,40	Sofrível
0,41-0,60	Regular
0,61-0,80	Boa
0,81-0,99	Ótima
1,00	Perfeita

4.6. COPRO-PCR PARA DETECÇÃO DE *Toxoplasma gondii*

Foram realizadas extrações de DNA de todas as amostras de fezes dos animais capturados. A extração do DNA foi de acordo com as instruções do KIT ROCHE®, Mannheim, Alemanha. Após a adição do tampão de lise, as amostras foram submetidas à fervura por 20 minutos e depois permaneceram em *overnight* a 37°C, para a ruptura da parede do oocisto. No dia seguinte, seguia-se o protocolo de extração de acordo com as recomendações do fabricante.

As Reações em Cadeia pela Polimerase (PCR) foram realizadas em um volume final de 25µL contendo 10mM TRIS HCl (pH 9,0), 3,5mM MgCl₂, 0,2U de *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen), 0,5mM de cada desoxinucleotídeos (dATP/ dTTP/ dGTP/ dCTP, Sigma Chemical Co., USA®), 50 pmoles de cada iniciador da reação (Invitrogen®) e 5µL de DNA molde. As reações foram realizadas no termociclador MasterCycler Personal. O programa de amplificação foi constituído de uma desnaturação inicial a 94°C (5 min), 35 ciclos de desnaturação a 94°C (1 min), anelamento a 62°C (1 min) e extensão a 72°C (1 min) seguida de extensão final a 72°C por 10 minutos. Os pares de primers utilizados foram: Toxo-B5 (5'-TGA AGA GAG GAA ACA GGT GGT CG-3') e Toxo-B6 (5'-CCG CCT CCT TCG TCC GTC GTA-3'). Líquido peritoneal de camundongos infectados com a cepa RH e ME49 e amostras de fezes positivas foram utilizados como controle positivo e para controle negativo foram utilizadas amostras de fezes negativas.

Os produtos amplificados pela PCR com o tamanho de 110pb foram visualizados por eletroforese em geis de poliacrilamida a 6% revelados pela prata (SANTOS et al., 1993).

5 RESULTADOS / DISCUSSÃO

5.1. PREVALÊNCIA DE PARASITOS ENTÉRICOS EM GATOS ERRANTES E DOMICILIADOS

Do total de 149 amostras de fezes de gatos, 65 amostras foram de gatos errantes e 84 amostras de gatos domiciliados. Das 65 amostras fecais de gatos errantes, 60% (39/65) foram positivas e 40% (26/65) negativas e das 84 amostras fecais de gatos domiciliados, 17% (14/84) foram positivas e 83% (70/84) foram negativas. (Figura 7). O estudo realizado por Serra et al., (2003) realizado na região metropolitana do Rio de Janeiro, avaliou a prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes e domiciliados, e também observou uma alta prevalência de parasitismo encontrada nos gatos de comportamento errante, e ainda justifica ser atribuída ao fato de serem mal nutridos, de não receberam tratamento antiparasitário e viverem mais expostos a infecções, circulando por diversas áreas, favorecendo a disseminação de enteroparasitos. O presente estudo também corrobora com os dados de Mattos e Viol (2013) realizado em Apucarana-PR, onde a prevalência de parasitos entéricos foi maior em gatos que possuíam livre acesso à rua quando comparados com os gatos que não vão para as ruas.

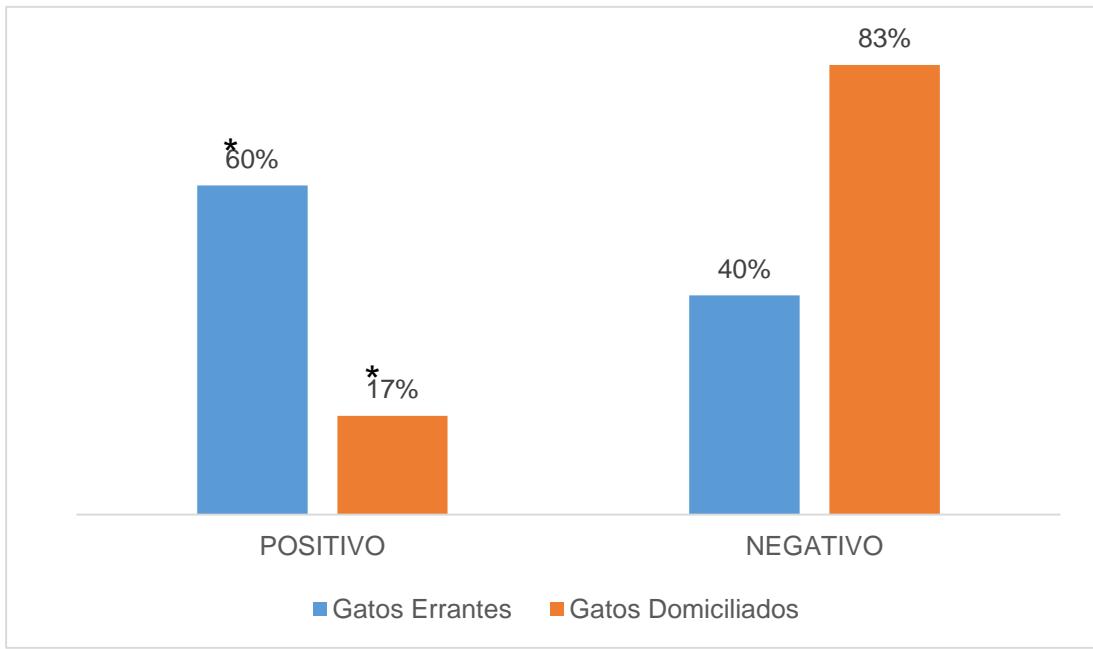


Figura 7. Prevalência de parasitos entéricos em 149 amostras fecais de gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia-Goiás e por uma Organização Não Governamental protetora de animais e gatos domiciliados de Goiânia-Goiás no período de março de 2015 a maio de 2016. Teste t significativo, quando $p \leq 0,05$ ($*p = 0,023$).

Ao analisar a prevalência dos enteroparasitos nas amostras positivas de gatos errantes, observou-se que 43,5% (17/39) dos animais estavam infectados por apenas um parasito, 30,7% (12/39) apresentaram ovos de Ancilostomídeos; 5,1% (2/39) oocistos de *T. gondii/H. hammondi*; 5,1% (2/39) ovos de *Toxocara cati*; 2,6% (1/39) oocistos de *Cystoisospora* sp.; e 56,5% (22/39) dos animais apresentaram poliparasitismo, sendo que 18% (7/39) estavam infectados por Ancilostomídeos, *Cystoisospora* sp. e *T. gondii/H. hammondi*; 13% (5/39) por *T. gondii/H. hammondi* e *Cystoisospora* sp.; 10,2% (4/39) por *T. gondii/H. hammondi* e Ancilostomídeos; 10,2% (4/39) por Ancilostomídeos e *Cystoisospora* sp.; 5,1% (2/39) por Ancilostomídeos e *T. cati*.

Ao analisar a prevalência dos enteroparasitos nas amostras positivas de gatos domiciliados, observou-se que todos os gatos estavam infectados por apenas um parasito, sendo que 57,1% (8/14) estavam infectados por Ancilostomídeos; 21,4% (3/14) por *T. gondii/H. hammondi*; 14,3% (2/14) por *T. cati*; 7,2% (1/14) por *Cystoisospora* sp. (Figura 8 e Tabela 5).

Tabela 5. Prevalência de parasitos entéricos em fezes de gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses e uma Organização Não Governamental em Goiânia-Goiás e gatos domiciliados de Goiânia-Goiás, no período de março de 2015 a maio de 2016.

Parasitos	Gatos errantes		Gatos domiciliados		Total	
	Positivos (39/65)	%	Positivos (14/84)	%	de positivos (53/149)	%
Ancilostomídeos	12	30,7%	8	57,1%	20	37%
<i>Cystoisospora</i> sp.	1	2,6%	1	7,2%	2	3,7%
<i>Toxocara cati</i>	2	5,1%	2	14,3%	4	7,5%
<i>Toxoplasma gondii/</i> <i>Hammondia hammondi</i>	2	5,1%	3	21,4%	5	9,2%
Ancilostomídeos + <i>Cystoisospora</i> sp.	4	10,2%	0	0%	4	7,5%
Ancilostomídeos + <i>T. cati</i>	2	5,1%	0	0%	2	3,7%
Ancilostomídeos + <i>T.</i> <i>gondii/H. hammondi</i>	4	10,2%	0	0%	4	7,5%
<i>T. gondii/H. hammondi</i> + <i>Cystoisospora</i> sp.	5	13%	0	0%	5	9,2%
Ancilostomídeos + <i>T.</i> <i>gondii/H. hammondi</i> + <i>Cystoisospora</i> sp.	7	18%	0	0%	7	12,9%
Total de animais infectados	39/65	100%	14/84	100%	53/149	100%

No grupo de gatos errantes, a prevalência dos animais infectados por Ancilostomídeos foi de 30,7% (12/39) em monoparasitismo e 43,5% (17/39) em poliparasitismo com outras espécies de parasitos; totalizando 74,2% (29/39) das amostras positivas apresentavam Ancilostomídeos. Já no grupo de animais domiciliados, a prevalência de Ancilostomídeos foi de 57,1% (8/14) (Figura 8 e Tabela 5).

O grande número de animais infectados com Ancilostomídeos, inclusive os gatos domiciliados, demonstra importância quanto aos riscos para população humana em relação à larva *migrans* cutânea. A prevalência deste parasito em ambos os grupos é bem maior que a dos demais parasitos, possivelmente devido à forma de infecção dos animais, pela ingestão de larvas ou pela penetração ativa em solos contaminados. Ancilostomídeos foram mais prevalentes nos trabalhos de Labruna et al., (2006); Bowman et al., (2010); Rezende et al., (2015), mesmo quando se adota diferentes técnicas parasitológicas O estudo de Rezende et al., (2015) em Goiânia, também encontrou uma alta prevalência de Ancilostomídeos, sendo que mais de 50% dos animais estavam infectados com este parasito.

Estudos com gatos errantes e domiciliados mostram prevalências variadas para Ancilostomídeos. Em gatos errantes, Silva et al., (2002) em Guarulhos-SP, demonstraram 100% de positividade, Coelho et al., (2009) 96% em Andradina-SP, Andrade et al., (2012) 95,8% e Serra et al., (2003) 60,6% no Rio de Janeiro-RJ, Pereira et al., (2012) 57,1% em Manaus-AM, Mundim et al., (2004) 52% em Uberlândia-MG, Rezende et al., (2015) 50,4% em Goiânia-GO, Vital et al., (2012), 50% em Brasília-DF, Tavares (2005) com 42,1% em São José dos Campos-SP, Torrico et al., (2008) 22,58% em Botucatu-SP, Dall'Agnol et al., (2010) 18,1% em Santa Maria-RS, Pegoraro et al., (2011) 15,79% em Maringá-SP, Ragozo et al., (2002) 8,7% em São Paulo-SP e Guarulhos-SP, Pivoto et al., (2013) com 2,6% em Santa Maria-RS e Funada et al. (2007) em São Paulo-SP, onde encontraram apenas 2,1% dos gatos errantes infectados. Em gatos domiciliados, Serra et al., (2003) observaram 26,1% de positividade no Rio de Janeiro-RJ e Ferreira (2016) 6,5% em Lisboa, Portugal.

A variação apresentada entre os estudos pode estar relacionada com o método utilizado para o diagnóstico não ser específico para o parasito. É importante ressaltar que a presença destes parasitos nas fezes de felídeos demonstra o papel destes animais como fonte de contaminação ambiental com parasitos que podem infectar outros felídeos domésticos e humanos.

Com o aumento da densidade populacional nas grandes cidades e, consequente aumento de cães e gatos, o ambiente urbano tem sido cada vez mais afetado pela contaminação ambiental e pela poluição fecal de jardins e parques públicos. No presente estudo, no grupo de animais errantes observamos uma prevalência de 5,1% (2/39) em monoparasitismo e também 5,1% (2/39) em

poliparasitismo com outras espécies de parasitos, totalizando 10,2% (4/39) das amostras positivas infectadas por *T. cati*. No grupo de animais domiciliados, a prevalência de gatos infectados por *T. cati* foi de 14,3% (2/14) (Figura 8 e Tabela 5). Por todas estas razões, a Toxocaríase é atualmente a zoonose parasitária mais comum nos países desenvolvidos (MADEIRA DE CARVALHO et al. 2005; OTERO et al. 2015).

Estudos realizados por Vaz et al. (2005) em Lisboa, Portugal mostraram uma prevalência de *T. cati* semelhante à do presente estudo, de 13,6% em gatos errantes, Duarte et al., (2010) encontraram 10,8% em Lisboa, Portugal, Ferreira et al., (2011) 10% em Évora, Portugal. No Brasil, estudos demonstraram maior prevalência, como Lorenzini et al., (2007) em Porto Alegre-RS, onde 28,8% dos gatos domiciliados estavam infectados por *T. cati*, Coelho et al., (2009) identificaram 43,1% positivos em Andradina-SP, Ragozo et al., (2002) 31,16% em São Paulo-SP, Serra et al., (2003) demonstraram uma prevalência de 28,8% no Rio de Janeiro-RJ, Pivoto et al., (2013) 18,8% em Santa Maria-RS, Pegoraro et al., (2011) 15,79% em Maringá-PR, Mundim et al., (2004) 14% em Uberlândia-MG. Estudos também mostraram uma baixa prevalência de *T. cati*, como Funada et al., (2007) com 6,1% de amostras positivas em São Paulo-SP, Tavares (2005) em São José dos Campos-SP demonstrou uma prevalência de 6%, Torrico et al., (2008) demonstraram 4,83% em Botucatu-SP, Dall'Agnol et al., (2010) 0,86% em Santa Maria-RS, Campos et al., (1974) encontraram uma prevalência de *T. cati* de 19% e Rezende et al., (2015) 0,9% em Goiânia-GO. Esses trabalhos demonstram a importância de se realizar medidas profiláticas para evitar a larva *migrans* cutânea, larva *migrans* visceral e enterite eosinofílica (PARSONS, 1987; SCHANTZ, 1991; SMYTH, 1995; PROVIC E CROESE, 1996).

No presente estudo, *Cystoisospora* sp. apresentou uma baixa prevalência em monoparasitismo, tanto no grupo de gatos domiciliados 7,2% (1/14), como no grupo de gatos errantes 2,6% (1/39). Embora a prevalência de *Cystoisospora* sp. em poliparasitismo no grupo de animais errantes foi elevada 41,2% (16/39) (Figura 8 e Tabela 5), corroborando com os resultados encontrados por Rezende et al., (2015) em Goiânia-GO, onde a prevalência em poliparasitismo deste parasito foi de 20%. Estudos com gatos errantes, mostraram variadas prevalências, como Pereira et al., (2012) em Manaus-AM, identificaram 85,7% de animais infectados, Serra et al., (2003) demonstraram uma prevalência de 74,2% no Rio de Janeiro-RJ, Torrico et al.,

(2008) 48,38% em Botucatu-SP, Coelho et al., (2009) 43,1% em Andradina-SP, Ragozo et al., (2002) 26,06% em São Paulo-SP, Dall'Agnol et al., (2010) 17,2% em Santa Maria-RS, Funada et al., (2007) 8,3% em São Paulo-SP, Pegoraro et al., (2011) 7,89% em Maringá-SP, Rezende et al., (2015) 7,7% em Goiânia-GO, Pivoto et al., (2013) 3,1% em Santa Maria-RS, Gennari et al., (1999) 2,55% em São Paulo-SP. Alguns estudos com gatos domiciliados, como Tesseroli et al., (2005) em Curitiba-PR constataram a prevalência de 75% dos animais infectados por *Cystoisospora* sp., Lorenzini et al., (2007) 27,1% em Porto Alegre-RS, Serra et al., (2003) 12,3% no Rio de Janeiro-RJ e Matos (2016) em Minho, Portugal, com a prevalência de 5,4%. Embora as espécies do gênero *Cystoisospora* não sejam de transmissão para o homem, a elevada prevalência demonstra a importância dos gatos errantes e domiciliados na epidemiologia deste coccídeo.

A prevalência de *T. gondii/H. hammondi* no presente trabalho foi de 5,1% (2/39) em gatos errantes em monoparasitismo e 41,2% (16/39) em poliparasitismo. Nos gatos domiciliados, 21,4% (3/14) dos animais se encontravam infectados por *T. gondii/H. hammondi* (Figura 8 e Tabela 5). Poucos trabalhos revelam a prevalência de *T. gondii* por testes parasitológicos em amostras fecais de gatos. Estudos com gatos errantes, como o de Rezende et al. (2015) em Goiânia-GO mostraram uma prevalência de 18,3%, Dall'Agnol et al. (2010) 4,3% em Santa Maria-RS, Gennari et al. (1999) 1,6% e Funada et al. (2007) 0,3% em São Paulo-SP. A baixa prevalência deste parasito encontrada nos demais estudos, pode estar relacionada com a não utilização de uma técnica específica para oocistos, à capacidade de observação dos analistas em identificar o oocisto, e como esses trabalhos não levaram em consideração da idade dos animais, podem ter sido analisadas fezes de animais cronicamente infectados. Dubey (1986) relatou a dificuldade no diagnóstico de oocistos de *T. gondii* por técnicas parasitológicas.

As diferentes prevalências encontradas no presente estudo e nos demais, revela a importância de um diagnóstico mais fidedigno, pois a capacidade de contaminação ambiental deste parasito é bastante elevada, sendo que um único gato é capaz de eliminar 10 milhões de oocistos em uma única defecação. Os oocistos eliminados nas fezes contaminam o ambiente, constituindo um grave risco para a saúde da população humana (DUBEY E BEATTIE, 1988; LINDSAY et al., 2002).

Realizando o teste t para avaliação da correlação estatística entre a prevalência de parasitos nos grupos de gatos errantes e domiciliados (Figura 7), demonstrou-se que houve diferença significativa entre os grupos, $p= 0,023$ ($p \leq 0,05$). O que indica que os gatos errantes têm uma probabilidade maior de ter parasitos quando comparados aos gatos domiciliados, podendo ser justificado pela alimentação escassa e inadequada, por não receberem tratamento antiparasitário e/ou por viverem expostos a infecções. Em relação ao sexo e idade entre os grupos de gatos errantes e domiciliados e em cada grupo específico não houve diferença estatística significativa. Entre os tipos de parasitos quando comparados nos grupos de errantes e domiciliados em monoparasitismo também não houve diferença estatística significativa.

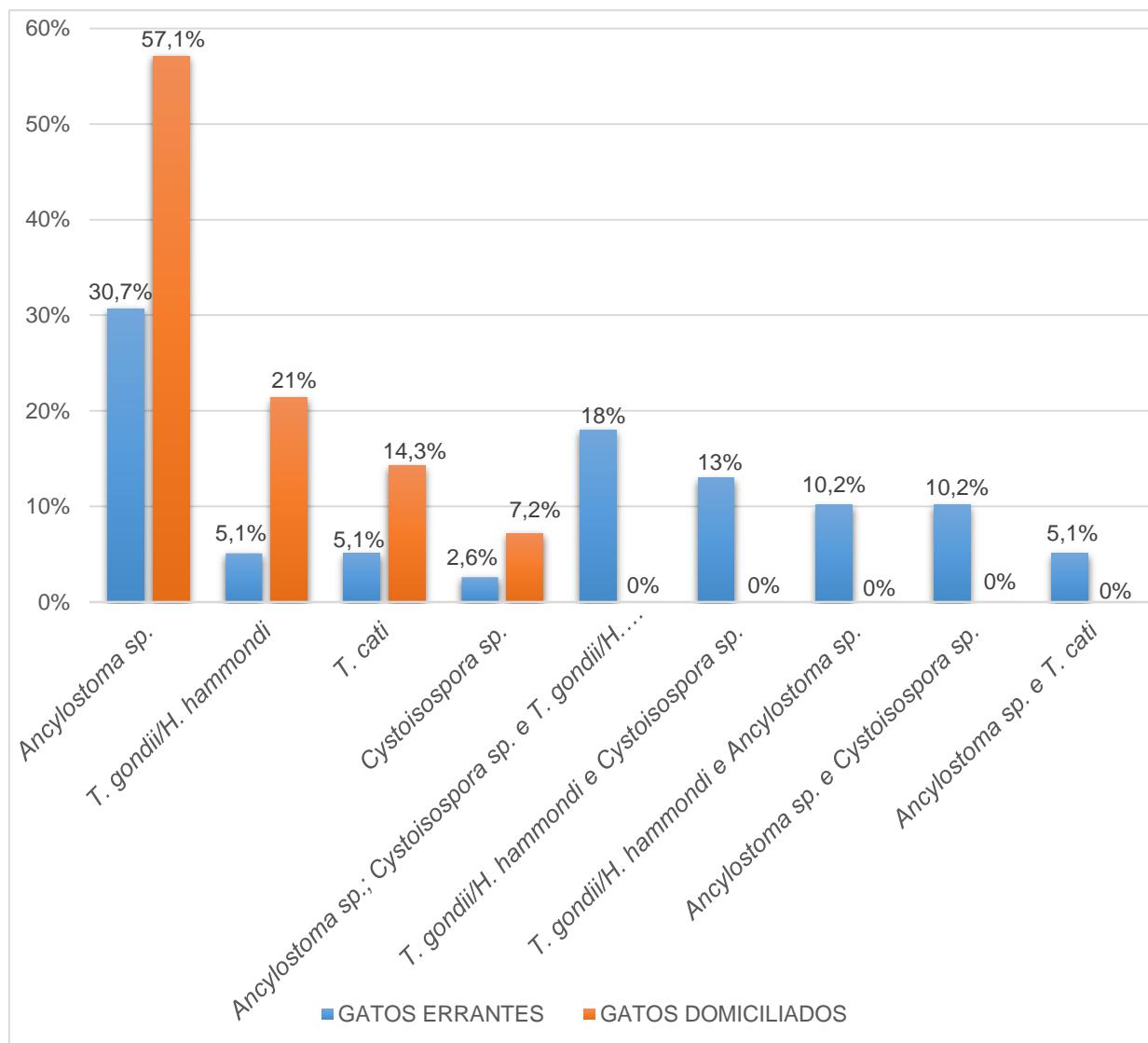


Figura 8. Distribuição e comparação de parasitos entéricos em fezes de gatos errantes capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses e uma Organização Não Governamental em Goiânia-Goiás e gatos domiciliados de Goiânia-Goiás, no período de março de 2015 a maio de 2016.

5.2. AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DAS TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS

Após a análise parasitológica das fezes dos gatos, utilizando diferentes métodos, foi possível identificar parasitos entéricos em 53 amostras. A técnica de Willis detectou 83% (44/53) com 9 falsos negativos. A técnica de Faust detectou 74% (39/53) dos positivos, seguido pela técnica de HPJL com 46% (24/53) e Sheather com 44% (23/53). Nas 53 amostras positivas, tanto de gatos errantes (39 positivas) e domiciliados (14 positivas), foi realizada a análise da frequência de positividade por técnica.

A análise de frequência de positividade das técnicas parasitológicas realizadas, demonstrou que a técnica de Willis apresentou melhor desempenho (83%), reforçando o uso desta técnica como padrão-ouro, corroborando com os estudos de Táparo et al. (2006), Ross et al. (2014), que relatam um bom desempenho da técnica de Willis na pesquisa de ovos, cistos e oocistos. A técnica de Faust obteve uma frequência de positividade próxima ao padrão-ouro (74%), e a técnica de Sheather foi a que apresentou menor frequência de positividade (44%). Mesmo o padrão-ouro não foi capaz de detectar 100% dos positivos, o que reforça a necessidade do emprego de mais de uma técnica diagnóstica. A utilização combinada de vários métodos é útil para detectar infecções intestinais causadas por parasitos, principalmente helmintos e protozoários, aumentando a acurácia do diagnóstico laboratorial (MENEZES et al., 2013).

O estudo realizado por Rezende et al., (2015) demonstrou que a técnica de HPJL detectou mais positivos, sendo a mais próxima ao padrão-ouro e a técnica de Faust apresentou a pior frequência de positividade, discordando do presente estudo, onde a técnica de Faust foi a mais próxima do padrão-ouro. A discordância dos resultados encontrados no presente estudo e no de Rezende et al., (2005) pode ser explicado pela população estudada ser diferente, já que o estudo de Rezende et al., (2005) avaliou apenas gatos errantes e o presente estudo analisou duas populações de gatos, errantes e domiciliados.

No atual estudo, fica evidenciado que a associação da técnica padrão-ouro (Willis) com a técnica de Faust pode ser utilizada para aumentar a eficácia diagnóstica, este dado é divergente ao encontrado no trabalho de Rezende et al., (2015) e Ribeiro et al., (2015), que recomendam a associação da técnica de Willis e a de HPJL no laboratório clínico e veterinário

Realizando a análise de acurácia das técnicas parasitológicas HPJL, Faust e Sheather comparando com a técnica de Willis (padrão-ouro) para o diagnóstico de ovos de Ancilostomídeos, a técnica que apresentou melhor acurácia foi à técnica de Faust, com 75% de sensibilidade e 99,1% de especificidade com VPP de 96%, VPN 93,5% e índice k (0,805) demonstrando boa concordância com o padrão-ouro (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação da acurácia das técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis (padrão-ouro), para o diagnóstico de Ancilostomídeos.

	Sensibilidade	Especificidade	VPP%	VPN%
	% (IC 95%)	% (IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)
Sheather	38,9%	97,3%	82,4%	83,3%
Faust	75,0%	99,1%	96,0%	93,5%
HPJL	34,4%	100,0%	100,0%	84,8%

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo, HPJL: Hoffman-Pons-Janer-Lutz, IC: índice de confiança.

O estudo de Cerqueira et al. (2007) teve como objetivo avaliar a eficiência da técnica de Willis comparada a de HPJL no diagnóstico de Ancilostomídeos, onde a técnica de HPJL se mostrou mais sensível que a técnica de Willis. No presente estudo, a técnica de HPJL obteve concordância regular ao padrão-ouro ($k=0,452$). Porém, a técnica de Faust apresentou melhor desempenho (Sensibilidade 75% e $k=0,805$), sendo mais indicada para o diagnóstico de Ancilostomídeos, por se tratar de um parasito que possui ovos leves, corroborando com o trabalho de Souza-Dantas et al., (2007), em que a sensibilidade da técnica de Faust chegou a 100% comparada à necropsia do tubo intestinal dos gatos.

A técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco (Técnica de Faust) (FAUST et al., 1938) é técnica de escolha na detecção de estruturas leves (DUBEY, 1993), podendo também ser usada na detecção de ovos pesados (CARLETON E TOLBERT, 2004), o que sugere ser uma técnica com boa sensibilidade diagnóstica (DRYDEN, 2005; FAUST et al., 1938). Este resultado difere do trabalho de Rezende et al. (2015), onde a técnica de Sheather obteve melhor sensibilidade para o diagnóstico de Ancilostomídeos.

Analizando a acurácia no diagnóstico de oocistos de *Cystoisospora* sp., a técnica de HPJL apresentou melhor acurácia, com 42,9% de sensibilidade, 99,3% de especificidade, VPP de 85,7%, VPN de 99,4% e índice k (0,542) demonstrando concordância regular ao padrão-ouro (Tabela 7). O presente estudo reforça a utilização da técnica de HPJL associada a técnica de Willis, corroborando com o trabalho de Rezende et al. 2015, onde a técnica de HPJL apresentou melhor sensibilidade para o diagnóstico de *Cystoisospora* sp. O estudo de Garcia (2007) recomendou a associação da técnica de HPJL com a técnica de Willis ou Sheather para o diagnóstico de coccídeos na rotina laboratorial.

Tabela 7. Avaliação da acurácia das técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis (padrão-ouro), para o diagnóstico de *Cystoisospora* sp.

	Sensibilidade	Especificidade	VPP%	VPN%
	% (IC 95%)	% (IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)
Sheather	28,6%	100,0%	100,0%	93,1%
Faust	38,5%	98,5%	71,4%	94,4%
HPJL	42,9%	99,3%	85,7%	94,4%

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo, HPJL: Hoffman-Pons-Janer-Lutz, IC: índice de confiança.

Analizando os resultados de acurácia para oocistos de *T. gondii/H. hammondi*, a técnica de Faust demonstrou a maior sensibilidade 92,9%, especificidade 94,8%, VPP 65%, VPN 99,2% e índice k (0,735) com concordância boa com a técnica padrão-ouro (Tabela 8). No estudo realizado por Rezende et al. (2015), a técnica de Faust também obteve melhor sensibilidade para o diagnóstico de oocistos de *T. gondii/H. hammondi* o que denota o bom desempenho desta técnica. As técnicas de flutuação em soluções saturadas são indicadas para oocistos e possuem boa sensibilidade diagnóstica (SHEATHER, 1923; FAUST et al., 1938; DRYDEN, 2005). Portanto, para o diagnóstico de oocistos de *T. gondii/H. hammondi* recomenda-se a associação da técnica de Willis com a técnica de Faust, ou Willis associada com a técnica de Sheather, onde $k=0,735$ demonstra boa concordância.

Tabela 8. Avaliação da acurácia das técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis (padrão-ouro), para diagnóstico de *Toxoplasma gondii/Hammondia hammondi*.

	Sensibilidade	Especificidade	VPP%	VPN%
	% (IC 95%)	% (IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)
Sheather	50,0%	99,2%	85,7%	95,6%
Faust	92,9%	94,8%	65,0%	99,2%
HPJL	28,6%	98,5%	66,7%	93,0%

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo, HPJL: Hoffman-Pons-Janer-Lutz, IC: índice de confiança.

Avaliando o índice *kappa* para o diagnóstico de Ancilostomídeos, a técnica de Faust demonstrou boa concordância com o padrão-ouro ($k=0,805$). Para o diagnóstico de *Cystoisospora* sp., a técnica de HPJL apresentou concordância regular, com k de 0,542. Na análise de acurácia para *T. gondii/H. hammondi*, a técnica de Faust apresentou boa concordância comparada ao padrão-ouro ($k=0,735$) (Tabela 9).

Tabela 9. Avaliação da concordância através do índice *kappa* (k) pelas técnicas de Sheather, Faust e Hoffman-Pons-Janer-Lutz em relação à técnica de Willis.

	Sheather (IC 95%)	Faust (IC 95%)	HPJL (IC 95%)
Ancilostomídeos	0,441	0,805	0,451
<i>Cystoisospora</i> sp.	0,420	0,467	0,542
<i>T. gondii/H. hammondi</i>	0,607	0,735	0,364

IC: índice de confiança.

5.3. AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DA COPRO-PCR PARA NA CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO CONVENCIONAL E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE OOCISTOS DE *Toxoplasma gondii*

Alguns coccídeos entéricos possuem características morfológicas muito semelhantes, dificultando o exame parasitológico a fresco de amostras fecais, podendo não ter resultados tão fidedignos. Neste contexto as técnicas moleculares

são importantes na confirmação do gênero/espécie do parasito encontrado nas amostras analisadas.

Neste estudo, foi possível visualizar oocistos de *T. gondii/H. hammondi* em 23/149 amostras através das técnicas parasitológicas convencionais. Destas foi possível comprovar pela Copro-PCR em 26% (6/23) que os oocistos observados realmente eram de *T. gondii*, enquanto que 74% (17/23) dos oocistos observados na microscopia óptica provavelmente eram de *H. hammondi*, espécie morologicamente semelhante a *T. gondii*. O que ressalta a importância do diagnóstico diferencial de *H. hammondi* e *T. gondii*, que mesmo estando intimamente relacionados, já que estes coccídeos compartilham os mesmos hospedeiros definitivos (felinos) e têm semelhanças morfológicas, mas segundo Dubey e Sreekumar (2003), *H. hammondi* não é conhecido por causar doença em gatos, como o *T. gondii*.

Pela Copro-PCR foi possível identificar a presença de material genético de *T. gondii* em 16,1% (24/149) das amostras fecais analisadas. Ressaltando que 12,1% (18/149) das amostras positivas pela Copro-PCR, foram negativas nos exames parasitológicos de fezes convencionais.

Somente em 4% (6/149) das amostras houve concordância de positividade e 72,4% (108/149) das amostras que foram negativas em ambos os métodos utilizados (Figura 9 e Tabela 10).

Estes dados demonstram a importância da comprovação do diagnóstico do *T. gondii* por técnicas moleculares. Estes resultados também foram descritos por Burg et al., (1989), que detectaram apenas um parasito no lisado celular, Hohfeld (1994) e Castro et al. (2001) em líquido amniótico, Spalding et al. (2002) em sangue e placenta de gestantes, Salant et al. (2007) em amostras fecais de gatos, Dehkordi et al. (2013) em leite de ovinos e caprino e Tian et al. (2014) em tecidos de gatos errantes e Ajzenberg et al. (2015) em amostras de sangue.

Tabela 10. Comparação da performance dos métodos parasitológicos convencionais com a Copro-PCR no diagnóstico de oocistos de *Toxoplasma gondii*.

EPF	Copro-PCR	Total de amostras	%
Positivo	Positivo	6	4%
Positivo	Negativo	17	11,4%
Negativo	Positivo	18	12,1%
Negativo	Negativo	108	72,4%
Total		149	100%

EPF: Exame Parasitológico de Fezes; Copro-PCR: Reação em Cadeia da Polimerase em amostras fecais

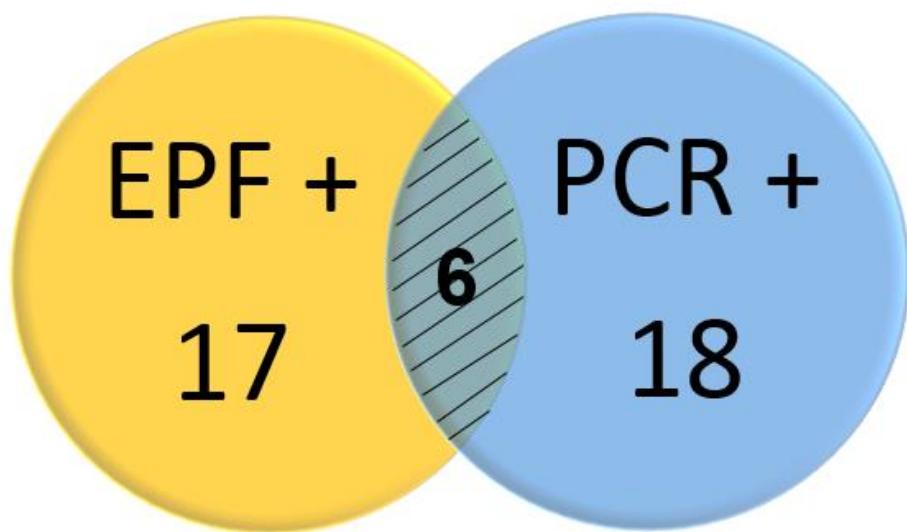


Figura 9. Detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* nas amostras fecais de gatos errantes e domiciliados pelas técnicas parasitológicas de fezes e Reação de Cadeia da Polimerase. EPF +: Exame Parasitológico de Fezes Positivo; PCR +: Reação em Cadeia da Polimerase Positiva.

6 CONCLUSÕES

- A prevalência de parasitos entéricos em gatos errantes foi superior a encontrada em gatos domiciliados, demonstrando que os gatos errantes representam uma importante fonte de contaminação ambiental e para transmissão de zoonoses. Porém, os gatos domiciliados apresentaram uma prevalência de parasitos considerável, também representando fonte de contaminação ambiental e potencial para transmissão de zoonoses.
- A prevalência de *T. gondii* foi maior em monoparasitismo nos gatos domiciliados, e elevada nos gatos errantes em poliparasitismo. O que indica que os gatos errantes se apresentam infectados com maior diversidade de parasitos, enquanto que os gatos domiciliados apresentam elevada prevalência por um único parasito.
- A técnica de Faust e HPJL apresentaram melhor acurácia para o diagnóstico de parasitos entéricos associadas à técnica de Willis (padrão-ouro).
- No diagnóstico parasitológico para oocistos de *T. gondii*, a técnica de Faust apresentou melhor acurácia associada à técnica de Willis (padrão-ouro).
- A Copro-PCR possibilitou o diagnóstico diferencial entre *T. gondii* e *H. hammondi*, demonstrando que a população gatil estudada apresenta alta prevalência de toxoplasmose, o que constitui um risco para a transmissão zoonótica e salienta a importância deste parasito na contaminação ambiental.
- A Copro-PCR apresentou uma sensibilidade elevada, detectando amostras positivas mesmo consideradas negativas pelo padrão-ouro, sendo importante a confirmação do diagnóstico de *T. gondii* pela Copro-PCR.

REFERÊNCIAS

ABASSI, I.; BRANZBURG, A.; CAMPOS-PONCE, M.; ABDEL HAFEZ, S. K.; RAOUL, F.; CRAIG, P. S.; HAMBURGER, J. Copro-diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs by amplification of a newly identified repeated DNA sequence. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, p. 324–330, 2003.

ABINPET: Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. Disponível em <<http://www.abinpet.org.br/>>. Acesso em 23 de setembro de 2016.

AJZENBERG, D. 1995-2015: it is time to celebrate 20 years of (intensive) genotyping of *Toxoplasma gondii* strains. **Future Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 689-91, 2015.

ANDRADE, V. A.; COSTA, M. A. F.; BARBOSA, J. V. Ocorrência de ovos de *Ancylostoma* spp. em amostras de fezes de gatos (*Felis catus* LINNAEUS, 1758) domiciliados em uma área escolar da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Cadernos UniFOA**, ed. 20, 2012.

AVELAR, J. B. Toxoplasmose crônica em gestantes. Avaliação da prevalência, fatores de risco e acompanhamento de um grupo de recém-nascidos em Goiânia – Goiás. **Tese de Doutorado, Universidade Federal de Goiás**, 2013.

AVMA, One Health (2008). Disponível em: <<https://www.avma.org/KB/Resources/Reports/Pages/One-Health.aspx>>. Acessado em: 15 de agosto de 2016.

BAHIA-OLIVEIRA, L. M.; JONES, J. L.; AZEVEDO-SILVA, J.; ALVES, C. C.; ORÉFICE, F.; ADDISS, D. G. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infect Diseases**, v. 9, p. 55-62, 2003.

BALASSIANO, B.C.; CAMPOS, M. R.; MENEZES, R. C.; PEREIRA, M. J. Factors associated with gastrointestinal parasite infection in dogs in Rio de Janeiro, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.91, n.2-4, p.234-240, 2009.

BARBORA, A. P.; SILVA, S. A.; CARNEIRO, J. R.; BEZERRA, J. C. B. Infecção por *Toxoplasma gondii* em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS) do Hospital de Referência Estadual para Doenças Infecciosas em Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 25, n. 1, p. 13-22, 1996.

BEAMAN, M. H.; MCCABE, R. E.; WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. *Toxoplasma gondii*. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**, v. 2, ed. 4, p. 2455-2475, 1995.

BECK, A. M.; MEYERS, N. M. Health enhancement and companion animal ownership. **Annual Review of Public Health**, v. 17, p. 247-257, 1996.

BELLI, S. I.; SMITH, N. C.; FERGUSON, J. P. The coccidian oocyst: a tough nut to crack! **Trends in Parasitology**, v. 22, p. 416–423. 2006.

BERGLER, R. Man and dog: the psychology of a relationship. **Blackwell Scientific Publications**, p. 188, 1988.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunder: Clínica de Pequenos Animais**, ed. 2, 2003.

BLADER, I. J.; SAEIJ, J. P. Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune invasion and virulence. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 117, p. 458-476, 2009.

BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A.; RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, ed. 5, p. 1770, 1983.

BOWMAN, D. D.; MONTGOMERY, S. P.; ZAJAC, A. M.; EBERHARD, M. L.; KAZACOS, K. R. Hookworms of dog and cats as agents of cutaneous larva *migrans*. **Trends in Parasitology**, v. 26, n. 2, p. 162-167, 2010.

BRINKER, J.C.; TEIXEIRA, M.C.; ARAÚJO, F.A.P. Ocorrência de Giardia sp. Em cães e gatos no município de Caxias do Sul, RS. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v 16, p. 113-119, 2009.

BURG, J. L. et al. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. **Journal Clinical of Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 1787-92, 1989.

CAMPOS, D. M. B.; GARIBALDI, I. M.; CARNEIRO, J. R. Prevalência de helmintos em gatos (*Felis catus domesticus*) em Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, v.3, p.355-359, 1974.

CANATTO, B. D. Caracterização das populações de cães e gatos domiciliados no município de São Paulo. **Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo**, 2010.

CARLETON, R. E.; TOLBERT, M. K. Prevalence of *Dirofilaria immitis* and gastrointestinal helminthes in cats euthanized at animal control agencies in northwest Georgia. **Veterinary Parasitology**, v.119, n.4, p.319-326, 2004.

CASTRO, F. C.; CASTRO, M. J. B. V.; CABRAL, A. C. V.; BRASILEIRO-FILHO, G.; VITOR, R. W. A.; LANA, A. M. A.; ANDRADE, G. M. Q. Comparação dos métodos para diagnóstico da toxoplasmose congênita. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 13, n. 5, p. 277-282, 2001.

CASTRO, J. M.; SANTOS, S. V.; MONTEIRO, N. A. Contaminação de canteiros da orla marítima do município de Praia Grande, São Paulo, por ovos de *Ancylostoma* e *Toxocara* em fezes de cães. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 199-201, 2005.

CERQUEIRA, E. J. L.; ARCANJO, M. S.; ALCÂNTARA, L. M. Análise comparativa da sensibilidade da técnica de Willis, no diagnóstico parasitológico da ancilostomíase. **Diálogos e Ciência**, v. 5, p. 1-7, 2007.

CHANDLER, E. A.; HILBERY, A. D. R, GASKELL, C. J. **Medicina e Terapêutica de Felinos**. São Paulo, ed. 2, p. 359, 1989.

CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B.; LEWI, D. S. Avaliação da relação entre parasitos intestinais e fatores de risco para o HIV em pacientes com AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 2, p. 181-185, 1999.

COELHO, W. M. D. Ocorrência de endoparasitos com potencial zoonótico em gatos no município de Andradina, São Paulo, Brasil. **Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista**, São Paulo, 2008.

COELHO, W. M. D.; AMARANTE, A. F. T.; SOUTELLO, R. V. G.; MEIRELES, M. V.; BRESCIANI, K. D. S. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em amostras fecais de felídeos no município de Andradina, São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v 18, p.46-49, 2009.

CÔRTES, V. A.; PAIM, G. V.; ALENCAR-FILHO, R. A. Infestação por ancilostomídeos e toxocarídeos em cães e gatos apreendidos em vias públicas, São Paulo (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v.22, n.4, p.341-343, 1988.

COUTINHO, S. G.; LOBO, R.; DUTRA, G. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in rural area in Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 68, n. 5, p. 886-868, 1982.

DALL'AGNOL, L. P.; OTTO, M. A.; SILVA, A. S.; MONTEIRO, S. G. Parasitos gastrintestinais em gatos naturalmente infectados no município de Santa Maria no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Veterinária Brasilica**, v 4, p.181-184, 2010.

DE CARLI, G. A. Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas, métodos e técnicas. Rio de Janeiro: Medsi. 2001.

DE CARLI, G. A. Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas. São Paulo, ed. 2, 2011.

DE CRAEYE, S.; FRANCART, A.; CHABAUTY, J.; DE VRIENDT, V.; VAN GUCHT, S.; LEROUX, I.; JONGERT, E. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Belgian house cats. **Veterinary Parasitology**, n. 157, p. 128-132, 2008.

DEHKORDI, F.S. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in raw caprine, ovine, buffalo, bovine and camel milk using cell cultivation, cat bioassay, capture ELISA, and PCR methods in Iran. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v. 10, p. 120-125, 2013.

DEMAR, M.; AJZENBERG, D.; SERRURIER, B.; DARDE, M. L.; CARMÉ, B. Case Report: Atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onça*) in French Guiana. **Tropical Medicine**, v. 78, n. 2, p. 195-197, 2008.

DÍEZ, J. G. O conceito one health no contexto da crise. 2015. Disponível em: <<http://www.researchgate.net/publication/258219771>>. Acesso em: 20 de agosto de 2016.

DRYDEN, M. W. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. **Veterinary Therapeutics**, v.6, n.1, p.15-28, 2005.

DUARTE, A.; CASTRO, I.; FONSECA, I. M. P.; ALMEIDA, V.; CARVALHO, L. M. M.; MEIRELES, J.; FAZENDEIRO, M. I.; TAVARES, L.; VAZ, Y. Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 6, p. 441, 2010.

DUBEY, J. P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Parasitology**, v. 7, p. 1019-1024, 1998.

DUBEY, J. P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 65-70, 1996.

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

DUBEY, J. P. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other cyst forming coccidia of humans and animals. In: Kreier, J. P. **Parasitic Protozoa**, New York, ed. 4, v. 4, p.1-57, 1993.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in cats. **Feline Practice**, v. 16, p. 12-26, 44-45, 1986.

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

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. Toxoplasmosis of Animals and Man. Boca Raton, Florida: **CRC Press**, p.151-153, 1988.

DUBEY, J. P.; FERGUSON, D. J. P. Life Cycle of *Hammondia hammondi* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in Cats. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 62, p. 346-352, 2015.

DUBEY, J. P.; LAGO, E. G.; GENNARI, S. M.; SU, C.; JONES, J. L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease and epidemiology. **Parasitology**, v. 10, p. 1-50, 2012.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, p. 267–299, 1998.

DUBEY, J. P.; MILLER, N. L; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **Journal of Experimental Medicine**, v. 132, p. 636-662, 1970.

DUBEY, J. P.; SREEKUMAR. Redescription of *Hammondia hammondi* and its differentiation from *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 33, p. 1437–1453, 2003.

DUBEY, J.P. Intestinal protozoa infections. **Veterinary Clinics of North América: Small Animal Practice**, v.23, n.1, p.37-55, 1993.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.189, n.2, p.166-70, 1986.

FAUST, E.C.; D'ANTONI, J. S.; ODOM, V.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIE, J.; WALKER, J. H. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine**, v.18, p.169-183, 1938.

FERREIRA, A. V. Contribuição do médico veterinário na educação dos proprietários de cães e gatos sobre o tratamento e controlo das parasitoses. **Dissertação de Mestrado, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Faculdade de Medicina Veterinária**, Lisboa, 2016.

FERREIRA, F. S.; PEREIRA-BALTASAR, P.; PARREIRA, R.; PADRE, L.; VILHENA, M.; TÁVORA TAVIRA, L.; ATOUQUIA, J.; CENTENO-LIMA, S. Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. **Veterinary parasitology**, v. 179, n.1-3, p. 242, 2011.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. Sulina, p. 114-118, 607, 1993.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages indentified as coccidian oocysts. **Science**, v. 167, p. 893-896, 1970.

FUNADA, M.R.; PENA, H.F.J.; SOARES, R.M.; AMAKU, M.; GENNARI, S.M. Frequência de parasitos gastrintestinais em cães e gatos atendidos em 67 hospital escola veterinário da cidade de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v 59, p.1338-1340, 2007.

GARCIA, L. S. Diagnostic medical parasitology. **ASM Press**, Washington, ed. 5, 2007.

GENNARI, S. M.; KASAI, M.; PENA, H. F. J.; CORTEZ, A. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de 42 São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v 36, p.87-91, 1999.

GIFFONI, A. A. Toxoplasmose em gestantes: abordagem epidemiológica nos postos de saúde da rede pública da cidade de Rio Verde-Goiás. **Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília**, 2007.

GONÇALVES, G. S.; ROCHA, R. D. R.; VIEIRA, B. M.; GARÓFALO, G. C.; COSTA, C. M. S.; BELÉM, M. E. P.; REIS, J. F. R. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas de sedimentação espontânea: kit comercial Coproplus®10 e método de Hoffman, Pons e Janer – HPJ. **Revista Iniciação Científica**, p. 124-129, 2016.

GUIMARÃES, A. M.; ALVES, E. G. L.; REZENDE, G. F.; RODRIGUES, M. C. Ovos de *Toxocara* sp. e larva de *Ancylostoma* sp.em praça pública de Lavras, MG. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 2, p. 293-295, 2005.

HEIDEL, J. R.; DUBEY, J. P.; BLYTHE, L. L.; WALKER, L. L.; DUIMSTRA, J. R.; JORDAN, J. S. Myelitis in a cat infected with *Toxoplasma gondii* and feline immunodeficiency virus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.196, n.2, p.316-318, 1990.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, p. 634-640, 2002.

HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, p. 41-61, 2005.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283-298, 1934.

HOHFELD, P.; DAFFOS. F.; COSTA, J.; THULLIEZ, P.; FORESTIER, F.; VIDAUD, M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase chain reaction test on amniotic fluid. **The New England Journal of Medicine**. v. 331, p. 695-699, 1994.

INNES, E. A. A brief history and overview of *Toxoplasma gondii*. **Zoonoses Public Health**, v. 57, p. 1-7, 2010.

INSTITUTO PASTEUR. Controle de populações de animais de estimação. São Paulo: Instituto Pasteur, 2000.

JONES, J. L.; KRUSZON-MORAN, D.; SANDERS-LEWIS, K.; WILSON, M. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999-2004, decline from the prior decade. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, p. 405-410, 2007.

JUNG, B. K.; LEE, S. E.; LIM, H.; CHO, J.; KIM, D. G.; SONG, H.; KIM, M. J.; SHIN, E. H.; CHAI, J. Y. Toxoplasma gondii B1 Gene Detection in Feces of Stray Cats around Seoul, Korea and Genotype Analysis of Two Laboratory-Passaged Isolates. **Korean Journal of Parasitology**, v. 53, n. 3, p. 259-263, 2015.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In Neves, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu. 2003.

KIM, K.; WEISS, L. M. Toxoplasma: the next 100 years. **Microbes and Infection**, v. 10, p. 978-984, 2008.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 4, 2004.

KRAEMER, H. C.; BLOCH, D. A. Kappa coefficients in epidemiology: an appraisal of a reappraisal. **Journal of Clinical**, v.41, p. 959-968, 1988.

KRAVETZ, J. D.; FEDERMAN, D. G. Toxoplasmosis in pregnancy. **American Journal of Medicine**, v. 118, p. 212-216, 2005.

LABRUNA, M. B.; PENA, H. F. J.; SOUZA, S. L. P.; PINTER, A.; SILVA, J. C.R.; ROGOZO, A. M. A.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de endoparasitos em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v 73, p.183-193, 2006.

LAPPIN, M. R. Feline infectious uveitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 2, p. 159-163, 2010.

LEVINE, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F. E. G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH, A. R.; LOM, J.; LYNN, P.; MERINFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F. G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal of Protozoology**, v. 27, p. 37-58, 1980.

LEVRINI, G.R.D. Cães e Gatos Abandonados: conflitos éticos da sociedade moderna.

Revista da Educomunicação Ambiental, v. 5, n. 1, p. 23-51, 2015.

LIMA, F. G.; AMARAL, A. V. C.; ALVES, R. O.; SILVA, E. B. Frequência de enteroparasitos em gatos no município de Goiânia-Goiás, no ano de 2004. **Enciclopédia Biosfera**, n. 2, 2006.

LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; DUBEY, J. P. Feline toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* oocyst. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinary**, v. 19, n. 4, p. 448-461, 1997.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n.4, p.309-313, 2002.

LORD, L. K. Attitudes toward and perceptions of free-roaming cats among individuals living in Ohio. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n.8, p. 1159-1167, 2008.

LORENZINI, G.; TASCA, T.; CARLI, G. A. Prevalence of intestinal parasites in dogs and cats under veterinary care in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 44, n. 2, p. 137-145, 2007.

LÜDER, C. G. K.; GROSS, U. Toxoplasmosis: from clinics to basic science. **Parasitology Today**, v.14, n.2, p.43-46, 1998.

LUKEŠOVÁ, D.; LITERÁK, I. Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic. **Veterinary Parasitology**, v. 74, p. 1 – 7, 1998.

MACHADO, E. R.; SANTOS, D. S.; COSTA-CRUZ, J. M. Enteroparasites and commensals among children in four peripheral districts of Uberlândia, State of Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 85-581, 2008.

MACHADO, R. A. F.; BORTOLLI, J. P.; BASSANEZI, F. Prevalência de cicatrizes coriorretinianas em exames angiográficos. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 2, p. 99-102, 2016.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M.; CARREIRA, M. C. P.; SANTOS, S. G., PEREIRA DA FONSECA, I. M. S.; AFONSO-ROQUE, M. M.; FAZENDEIRO, M. I. Toxocarose/Larva Migrante Visceral – Um problema de Saúde Pública urbano? **Situação epidemiológica na área da Grande Lisboa**, v. 1, p. 5, 2005

MANAIR, R. C.; DE LA CRUZ, C.; ASENSIO, A.; DOMINGUEZ, L.; VÃZQUEZ-BOLAND, J. A. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in small ruminants of the Madrid region, Spain, and identification of factors influencing

seropositivity by multivariate analysis. **Veterinary Research Communications**, v. 20, n. 2, p. 153-159, 1996.

MATOS, B. M. Parasitoses pulmonares e gastrointestinais em felinos domésticos no Minho, Portugal. **Dissertação de mestrado, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária**, 2016.

MATTOS, B. B.; VIOL, B. M. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em fezes de gatos domiciliados. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 7, n. 1. 2013.

MCCARTHY, J.; MOORE, T.A. Emerging helminths zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12, p. 12-13, 2000.

MCKINNEY, H. R. A study of toxoplasma infections in cats as detected by the indirect fluorescent antibody method. **Veterinary Medicine Small Animal Practice**, v. 68, n. 5, p. 493-495, 1973.

MEIER, H.; HOLZWORTH, J.; GRIFFITHS, R. C. Toxoplasmosis in cats. Fourteen cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 131, n. 9, p. 395-414, 1957.

MEIRELES, L. R.; GALISTEO, J. R., POMPEU, E.; ANDRADE, J. R. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, n. 8, p. 876-881, 2004.

MENDES, C. R.; TEIXEIRA, A. T. L. S. T.; PEREIRA, R. A. T.; DIAS, L. C. S. Estudo comparativo entre os métodos de Kato-Katz e Coprotest. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 38, n. 2, p. 178-180, 2005.

MENDES-DE-ALMEIDA, F.; SILVA, M. M. O.; LABARTHE, N. *Giardia* spp. em amostras fecais de gatos domésticos do Rio de Janeiro, RJ. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 468-469, 2007.

MENEZES, R. A. O.; GOMES, M. S. M.; BARBOSA, F. H. F.; MACHADO, R. L. D.; ANDRADE, R. F.; COUTO, A. A. R. Sensibilidade de métodos parasitológicos para o diagnóstico das enteroparasitoses em Macapá – Amapá, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 13, n. 2, 2013.

MILLAR, P. R.; SOBREIRO, L. G.; BONNA, I. C. F.; AMENDOEIRA, M. R. R. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n.3, p. 693- 706, 2008.

MIRÓ, G.; MONTOYA, A.; JIMÉNEZ, S.; FRISUELOS, C.; MATEO, M.; FUENTES, I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 249-255, 2004.

MONTEIRO, M. F. M.; RAMOS, R. A. N.; CALADO, A. M. C.; LIMA, V. F. S.; RAMOS,

I. C. N.; TENÓRIO, R. F. L.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. Gastrointestinal parasites of cats in Brazil: frequency and zoonotic risk. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 254-257, 2016.

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

MOOJEN, J. **Enciclopédia Os Animais**. Rio de Janeiro: Bloch Editores, v. 1. 1976.

MORO, F. C. B.; PRADEBON, J. B.; SANTOS, H. T.; QUEROL, E. Ocorrência de *Ancylostoma* e *Toxocara* em praças e parques públicos dos municípios de Itaqui e Uruguaiana, fronteira oeste do Rio Grande do Sul. **Biodiversidade Pampeana**, v. 6, n. 1, p. 25-29, 2008.

MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzymol**, v. 155, n. 3, p 35-50, 1987.

MUNDIM, T. C. D.; OLIVEIRA-JÚNIOR, S. D.; RODRIGUES, D. C.; CURY, M. C. Frequência de helmintos em gatos de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 562-563, 2004.

OLAFSON, P.; MONLUX, W. S. Toxoplasma infection in animals. **Cornell Veterinarian**, v. 32, n. 2, p. 176-90, 1942.

ORLANDI, P. A.; LAMPEL, K. A. Extraction-free, filter-based template preparation for rapid and sensitive PCR detection of pathogenic parasitic protozoa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p. 2271–2277, 2000.

OTERO, D.; FERREIRA, A.; CRUZ, R.; ALHO, A. M.; CARVALHO, L. M. *Toxocara* spp.: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal. **Clínica Animal**, ed. 3, 2015.

PAGE, S. W. Antiparasitic drugs. **Small animal clinical pharmacology**, ed. 2, p. 198-260, 2008.

PAIXÃO, R. L.; MACHADO, J. C. A representação do gato doméstico em diferentes contextos socioculturais e as conexões com a ética animal. **Revista Internacional Interdisciplinar Interthesis**, Florianópolis, v. 11, n. 1, p. 231-253, 2014.

PAIXÃO, R. L.; MACHADO, J. C. Conexões entre o comportamento do gato doméstico e casos de maus-tratos, abandono e não adoção. **Revista Brasileira de Direito Animal**, v. 20, p. 137-168, 2015.

PALMER, C. S.; TRAUB, R. J.; ROBERTSON, I. D.; DEVLIN, G.; REES, R.; THOMPSON, R. C. A. Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 154, p. 142-147, 2008.

PALUDO, M. L.; FALAVIGNA, D. L. M.; ELEFANT, G. R.; GOMES, M. L.; BAGGIO, M. L. M.; AMADEI, L. B.; FALAVIGNA-GUILHERME, A. L. Frequência de infecção por *Toxocara* em crianças atendidas em serviço público de Maringá, Sul do Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 6, p. 343-348, 2007.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Perinatal infections – transmitted by mother to her infant. Educational material for health personnel. March of dimes foundation. **Latin American Center For Perinatology/ Women And Reproductive**, p. 44-46, 2008.

PAPPAS, G.; ROUSSOS, N.; FALAGAS, M. E. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* soroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. **International Journal Parasitology**, v. 39, p. 1385-1394, 2009.

PARSONS, J. C. Ascarid infections of cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 17, p. 1307-1339, 1987.

PATRONEK, G. J.; GLICKMAN, L. T.; BECK, A. M.; MCCABE, G. P.; ECKER, C. Risk factors for relinquishment of cats to an animal shelter. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 3, p. 582-588, 1996.

PEGORARO, J.; AGOSTINI, C.; LEONARDO, J. M. L. O. Incidência de parasitos intestinais de caráter zoonótico em cães e gatos na região de Maringá. **Anais eletrônico, VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**, Editora Cesumar, Maringá, Paraná, Brasil, 2011.

PEREIRA, MG. **Epidemiologia: Teoria e Prática**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1995.

PEREIRA, N. V.; SOUZA, F. S.; PIRANDA, E. M.; CANÇADO, P. H. D.; LISBÔA, R. S. Enteroparasitos encontrados em cães e gatos atendidos em duas clínicas veterinárias na cidade de Manaus, AM. **Amazon Science**, v 1, p. 8-17, 2012.

PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L.; VIDAL, J. E.; SU, C. *Toxoplasma gondii* infection and cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients. **Future Microbiology**, n. 4, p. 1363-1379 2009.

PETERSEN, E.; DUBEY, J. P. Biology of *Toxoplasma gondii*. **Toxoplasmosis: A comprehensive clinical guide**, p.1-49, 2001.

PETRAK, M.; CARPENTER, J. Feline toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 146, n. 7, p. 728-34, 1965.

PIVOTO, F. L.; LOPES, F. L. D.; VOGEL, F. S. F.; BOTTON, S. A.; SANGIONI, L. A.

Ocorrência de parasitos gastrointestinais e fatores de risco de parasitismo em gatos domésticos urbanos de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v 43, p.1453- 1458, 2013.

PLANT, J. W.; RICHARDSON, N.; MOYLE, G. G. Toxoplasma infection and abortion in sheep associated with feeding of grain contaminated with cat faeces. **Australian Veterinary Journal, Artamon**, v. 50, p. 19-21, 1974.

PROVIC, P.; CROESE, J. Human enteric infection with *Ancylostoma caninum*: hookworms reappraised in the light of a new zoonosis. **Acta Tropica**, v. 62, p. 2344, 1996.

RAGOZO, A. M. A.; MURADIAN, V.; RAMOS-E-SILVA, J. C.; CARAVIERI, R.; MAJONER, V.R.; MAGNABOSCO, C.; GENNARI, S. M. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em fezes de gatos das cidades de São Paulo e Guarulhos. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 39, p. 244-246, 2002.

RAMOS SILVA, J. C.; OGASSAWARA, S.; ADANIA, C. H.; FERREIRA, F.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; FERREIRA-NETO, J. S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 217 – 224, 2001.

REMINGTON, J. S.; MCLEOD, R.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: **Infection diseases of the fetus and newborn infant**, ed. 4, p. 140-267, 1995.

REMINGTON, J. S.; MCLEOUD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**, ed. 6, p. 947-1091, 2005.

REMINGTON, J. S.; THULLIEZ, P.; MONTOYA, J. G. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 941-945, 2004.

REY, L. Bases da Parasitologia Médica. Rio de Janeiro, ed. 2, 2002.

REY, L. *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose. In: **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.321-334, 2001.

REZENDE H. H. A.; AVELAR, J. B.; STORCHILO H. R.; VINAUD, M. C.; CASTRO, A. M. Evaluation of the accuracy of parasitological techniques for the diagnosis of intestinal parasites in cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p.471 - 474, 2015.

REZENDE, H. H. A. A. Prevalência de parasitos intestinais em gatos errantes em Goiânia – Goiás: Ênfase no diagnóstico de *Toxoplasma gondii* e avaliação da acurácia de técnicas parasitológicas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, 2015.

RIBEIRO, E. S.; AMARANTE, A. F. T.; SERRANO, A. C. M.; TÁPARO, C. V.; PIERUCCI, J. C.; MATOS, L. V. S.; ISHIZAKI, M. N.; BRESCIANI, K. D. S. Diagnosis of gastrointestinal parasites in cats: a comparison of different methodologies. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 4, p. 381-385, 2015.

ROCHLITZ, I. Feline welfare issues. In: TURNER, D. C.; BATESON, P. **The domestic cat: The Biology of its Behaviour**, p. 207-226, 2000.

ROSS, M.; SCHMITT, B. A. M.; DE-PAULA, D.; TOMAZZI, R. C.; CECCHIN, R. S.; KUNH, F.; TAMANHO, J.; FELIPPIN, T.; SPEROTTO, R. L.; ZANELLA, J. F. P. Prevalência de ovos, larvas, cistos e oocistos de parasitos com potencial. **Revista de Patologia Tropical**, v. 43, n. 3, p. 341-350, 2014.

SALANT, H.; MARKOVICS, A.; SPIRA, D. A.; HAMBURGER, J. The development of a molecular approach for coprodiagnosis of *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v. 46, p. 214–220, 2007.

SAMPAIO, A. B. Percepção da população do município de Cruz Alta (RS) sobre zoonoses transmitidas por cães e gatos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.3, p. 179-185, 2014.

SANTAREM, V. A.; SERTOR, I. F.; BERGAMO, F. M. M. Contamination by *Toxocara* spp.s eggs in public parks and squares in Botucatu, São Paulo State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 6, p. 529-532, 1998.

SANTOS, F.R.; PENA, S.D.J.; EPPLEN, J.T. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. **Human Genetics**, v. 90, p. 655-656, 1993.

SARTORI, A. L.; MINAMISAVA, R.; AVELINO, M. M.; MARTINS, C. A. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 33, n. 2, p. 93-98, 2011.

SCAINI, C. J.; TOLEDO, R. N.; LOVATEL, R.; DIONELLO, M. A.; GATTI, F. A.; SUSIN, L.; SIGNORINI, V. R. M. Environment contamination by helminth eggs and larvae in dog feces from central area of Cassino Beach, Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 617-619, 2003.

SCHANTZ, P. M. Parasitic zoonoses in perspective. **International Journal of Parasitology**, v. 21, n. 2, p. 161-170, 1991.

SERRA, C. M. B.; UCHÔA, C. M. A.; COIMBRA, R. A. Exame parasitológico de fezes de gatos (*Felis catus domesticus*) domiciliados e errantes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.

36, n. 3, p. 331-364, 2003.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotoation technic. **J Comp Ther**, v. 36, p. 266-275, 1923.

SHIMIZU, T. Prevalence of *Toxocara* eggs in sandpits in Tokushima city and its outskirts. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 55, n. 5, p. 807-811. 1993.

SIBLEY, L. D.; BOOTHROYD, J. C. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. **Nature**, London, v. 359, n. 6, p. 82-85, 1992.

SILVA, H. C.; CASTAGNOLLI, K. C.; SILVEIRA, D. M.; COSTA, G. H. N.; GOMES, R. A.; NASCIMENTO, A. A. Fauna helmíntica de cães e gatos provenientes de alguns municípios do Estado de São Paulo. **Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 63- 66, 2001.

SILVA, J. C. R.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M. A.; AMAJONES, V. R.; AGNABOSCO, C.; YAI, L. E. O.; FERREIRA-NETO, J. S.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic cats from Guarulhos and São Paulo, **Brazil. Journal Parasitology**, v. 88, n. 2, p. 419-420, 2002.

SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal. Parasitology**, v. 27, p. 1135– 1145, 1997.

SMYTH, J. D. Rare new emerging helminth zoonoses. **Advances in Parasitology**, v. 36, p. 145, 1995.

SOBKY, M. M. E.; MELEGI, M. A. E.; ABO-KHALIL, N. A. Use of multiplex PCR in the differential detection of *Entamoeba histolytica* and/or *Entamoeba dispar* in comparison to microscopic examination. **Parasitologists United Journal**, Cairo, v.4, n.2, p.193-200, 2011.

SOLDATI, D; MEISSNER, M. Toxoplasma as a novel system for motility. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 16, p. 32-40, 2004.

SOUZA, W. S.; MARTINS-DUARTE, E. S.; LEMGRUBER, L.; ATTIAS, M.; VOMMARO, R. C. Organização estrutural do taquizoítico de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**, v. 20, n. 1, p. 131-143, 2010.

SOUZA-DANTAS, L. M.; BASTOS, O. P. M.; BRENER, B.; SALOMÃO, M.; GUERRERO, J.; LABARTHE, N. V. Técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco no diagnóstico de helmintos gastrintestinais de gatos domésticos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 904-906, 2007.

SOUZA-DANTAS, L.M.; SOARES, G. M.; D'ALMEIDA, J. M.; PAIXÃO, R. L. Epidemiology of domestic cat behavior and welfare issues: a survey of Brazilian referral animal hospitals in 2009. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.7, p.130-137, 2009.

SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M. R. R.; COELHO, J. M.C.; ANGEL, S. O. Otimização da reação de polimerase em cadeia para detecção de *Toxoplasma gondii* em sangue venoso e placenta de gestantes. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 38, n. 2, p. 105-110, 2002.

SPARKERS, A. H. Toxoplasmosis in cats. **Veterinary Animal**, v. 31, n. 2, p. 186192, 1991.

SUKTHANA, Y. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 3, p. 137-142, 2006.

SUZUKI, Y. Host resistance in the brain against *Toxoplasma gondii*. **Journal Infection Diseases**, v. 185, p. 58-65, 2002.

TÁPARO, C. V.; PERRI, S. H. V.; SERRANO, A. C. M.; ISHIZAKI, M. N.; COSTA, T. P. D.; AMARANTE, A. F. T.; BRESCIANI, K. D. S. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoário em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 1, p. 1-5, 2006.

TAVARES, F.G. Estudo das parasitoses gastrintestinais de cães e gatos domésticos no município de São José dos Campos – SP. **Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Vale do Paraíba**, São Paulo, 2005.

TEIXEIRA, C. R.; CHIEFFI, P. P.; LESCANO, S. A. Z.; SILVA, E. O. M.; FUX, B.; CURY, M. C. Freqüência e fatores de risco associados à toxocaríase em crianças de ambulatório pediátrico na região sudeste **do Brasil**. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 5, p. 251-255, 2006.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii* from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1268, 2000.

TENTER, A. M.; JOHNSON, A. M. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidian. **Advances in Parasitology**, v. 39, p. 69-139, 1997.

TESSEROLLI, G. L.; FAYZANO, L.; AGOTTANI, J. V. B. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em fezes de cães e gatos, Curitiba-PR. **Revista Acadêmica – Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 3, p. 31-34, 2005.

THOMAS, K. **O homem e o mundo natural: mudanças de atitudes em relação às plantas e aos animais (1500-1800)**. São Paulo: Companhia das Letras, p. 110-218, 2001.

THOMPSON, R. C. A.; PALMER, C. S.; HANDLEY, R. O. The public health and significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. **The Veterinary Journal**, v. 177, n. 1, p. 18-25, 2007.

TORRICO, K. J.; SANTOS, K.R.; MARTINS, T.; SILVA, F. M. P.; TAKAHIRA, R. K.; LOPES, R. S. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em cães e gatos na rotina do laboratório de enfermidades parasitárias da FMVZ/UNESP-Botucatu, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 182-183, 2008.

TZANNES, S.; BATCHELOR, D. J.; GRAHAM, P. A.; PINCHBECK, G. L.; WASTLING, J.; GERMAN, A. J. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Isospora* species infections in pet cats with clinical signs of gastrointestinal disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2008.

VAN DER PUIJE, W. N.; BOSOMPEM, K. M.; CANACOO, E. A.; WASTLING, J. M.; AKANMORI, B. D., The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats, Memorial Institute, **Acta Tropica**. V. 76, n. 1, p. 21-26, 2000.

VAZ, Y. Estudo de doenças transmissíveis em populações de gatos errantes. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, p. 9-10, 2005.

VIEIRA, R. M. R. Amebíase e outras parasitoses intestinais no município de São João do Piauí, PI – Brasil. **Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Fluminense**, Rio de Janeiro, 2004.

VITAL, T. E.; BARBOSA, M. R. A.; ALVES, D. S. M. M. Ocorrência de parasitos com potencial zoonótico em fezes de cães e gatos do Distrito Federal. **Ensaios e Ciência**, v. 1, p. 16, 2012.

WEISS, L. M.; KIM, K. The development in biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. **Frontiers in Bioscience**, v. 5, p. 391-405, 2000.

WITT, C. J.; MOENCH, T. R.; GITTELSON, A. M.; BISHOP, B. D.; CHILDS, J. E. Epidemiologic observations on feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* on infection in cats in Baltimore, Md. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 2, p. 229-233, 1989.

ZHAO, X.; DUSZYNSKI, D. W.; LOKER, E. S. A simple method of DNA extraction for *Eimeria* species. **Journal of Microbiological Methods**, v. 2, p. 131–137, 2001.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética nº 054/13



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Goiânia, 08/12/2013

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA, PROTOCOLADO NESTE COMITÊ SOB O N. 054/13

I - Finalidade do projeto (pesquisa/ensino): pesquisa

II - Identificação:

- Título do projeto: OCORRÊNCIA DE PARASITOS INTESTINAIS E EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Toxoplasma gondii* EM FEZES DE GATOS ERRANTES EM GOIÂNIA – GOIÁS

Pesquisador Responsável/ Unidade:

- Hánstter Hálison Alves Rezende

Pesquisadores Participantes:

Ana Maria de Castro	UFG	Biomédica	Doutora	Orientadora
Juliana Boaventura Avelar	PUC GOIÁS	Biomédica	Doutora	Colaboradora
Marina Clare Vinaud	UFG	Biomédica	Doutora	Colaboradora
Everton Kort Kamp Fernandes	UFG	Médico Veterinário	Doutor	Colaborador

Unidade onde será realizado:

- 1) Laboratório de Estudos da Relação Parasito Hospedeiro do IPTSP/UFG. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP.
2) Centro de Zoonoses de Goiânia-Goiás

Data de apresentação ao CEUA: 02/10/13

III - Objetivos e justificativa do projeto:

Objetivos: Verificar a ocorrência de parasitos intestinais em gatos errantes capturados pelo centro de zoonoses de Goiânia – Goiás. Estudar a epidemiologia da toxoplasmose em gatos errantes em Goiânia, Goiás. Realizar a caracterização molecular de isolados de *T. gondii* em amostras fecais de gatos errantes em Goiânia-GO.

Justificativa: O isolamento e a caracterização molecular dos isolados nas amostras de fezes dos gatos errantes são de suma importância, pois demonstrará quais as linhagens de cepas que circulam naturalmente em Goiânia-GO, estudo este ainda não realizado em Goiânia, Goiás.

IV - Sumário do projeto:

Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos:

- O gato é o hospedeiro definitivo para o parasito *Toxoplasma gondii*, dessa forma liberam nas fezes os oocistos nomeio (Kawazoe, 2003). A fase sexuada acontece nos gatos e felídeos silvestres que são os hospedeiros definitivos. O gato se infecta ingestão de oocistos presentes em

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.
Email: ceua.ufg@gmail.com

N



solo contaminado, e pela ingestão de roedores com cistos tissulares em seus tecidos (Kawazoe, 2003; Dubey e cols. 1998). Por esse motivo é necessário o emprego destes animais para estudar o perfil epidemiológico da doença, bem como o potencial destes animais como transmissores ao ser humano.

Descrição do animal utilizado (número, espécie, linhagem, sexo, peso, etc):

Serão utilizados gatos domésticos oriundos do Centro de Zoonoses de Goiânia-GO. Serão coletadas fezes frescas das gaiolas de cerca de 200 gatos durante o período da pesquisa.

Descrição das instalações utilizadas e número de animais/área/qualidade do Ambiente (ar, temperatura, umidade), Alimentação/hidratação:

Os animais capturados pelo centro de zoonoses são alojados em gaiolas coletivas nas dependências da unidade. A luminosidade, intensidade de ruído e temperatura são do ambiente geral. Recebem água e ração balanceada própria para gatos à vontade até o momento da eutanásia, que é realizada pelo médico veterinário responsável do local.

Utilização de agente infecioso/gravidade da infecção a ser observada:

Não se aplica.

Adequação da metodologia e considerações sobre o sofrimento imposto aos animais:

A metodologia, pautada na coleta de fezes em gaiolas, não implica em sofrimento aos animais. O alojamento dos animais segue o da rotina do Centro de Zoonoses.

Método de eutanásia:

Não se aplica.

Destino do animal:

Seguirá os critérios de rotina do Centro de Zoonoses.

IV – Comentários do relator frente às orientações da SBCAL

Estrutura do protocolo:

O processo apresenta todos os documentos necessários a sua análise. Apresenta orçamento detalhado, sendo que todo o material já foi adquirido. Possui cronograma adequado. Apresenta o termo de consentimento de utilização de animais em projeto de pesquisa emitido pelo Centro de Zoonoses de Goiânia – Goiás.

Análise de sofrimento imposto, métodos alternativos e benefícios:

Os animais não serão submetidos a condições de sofrimento em função da metodologia aplicada pois o método de coleta não será invasivo, ocorrendo após a emissão espontânea das fezes pelo animal. Por se tratar de um estudo epidemiológico, não há métodos alternativos. A pesquisa traz como benefício o conhecimento da ocorrência dos parasitos intestinais que infectam os gatos domésticos errantes em Goiânia-GO, dando suporte aos programas de saúde pública da região.

Análise dos riscos aos pesquisadores/alunos:

Os riscos aos pesquisadores são mínimos pela utilização de equipamentos de proteção individual, como luvas, máscaras, jalecos e óculos de proteção.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.
Email: ceua.ufg@gmail.com



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Necessidade do número de animais:

A amostra é uma estimativa do total de gatos que são capturados anualmente pelo centro de zoonoses.

V - Parecer do CEUA:

De acordo com a documentação apresentada a este comitê consideramos o projeto **APROVADO**, smj deste Comitê.

VI - Data da reunião: 09/12/2013


Dra. Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera

Coordenadora da CEUA/PRPPG/UFG


Prof. João Carlos da Rocha Medrano
Coordenador Geral de Pesquisa
Mat. SIAPE 300203 / PRPPG / UFG

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia
(Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.
Email: ceua.ufg@gmail.com

Anexo 2 – Parecer do Comitê de Ética nº 024/2016



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Goiânia, 11 de julho de 2016.

PARECER REFERENTE AO PROJETO PROTOCOLADO NESTA COMISSÃO SOB O N. 024/2016

I - Finalidade do projeto (pesquisa/ensino): Pesquisa

II - Identificação:

Título do projeto: Epidemiologia molecular de isolados de *Toxoplasma gondii* em gatos errantes (*felis catus domesticus*) em Goiânia, Goiás, Brasil.

Pesquisador Responsável/Unidade: Hanssler Hallison Alves Rezende-
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/IPTSP-UFG

Pesquisadores Participantes:

Nome/Endereço do Currículo Lattes	Instituição	Formação Básica	Titulação Mais Recente	Função na Pesquisa
Ana Maria de Castro http://lattes.cnpq.br/9232309971000621	IPTSP/UFG	Biomédica	Doutorado	Coordenadora
Jaqueleine Ataíde Silva Lima http://lattes.cnpq.br/7620558415017849	IPTSP/UFG	Biomédica	Especialista	Coleta de amostras biológicas, realização de testes diagnósticos
Juliana Boaventura Avelar http://lattes.cnpq.br/2170858365257711	Univ. Rio Verde	Biomédica	Doutorado	Coleta de amostras biológicas, realização de testes diagnósticos
Marina Clare Vinaud http://lattes.cnpq.br/1921551651088660	IPTSP/UFG	Biomédica	Doutorado	Co-orientadora. Coleta de amostras biológicas

Médico Veterinário Responsável: Everton Kort Kamp Fernandes (CRMV GO 5137)

Unidade onde será realizado: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO.

Data de apresentação a CEUA: 22/03/2016

Data de Apresentação do Atendimento de Pendências: 20/05/2016

III - Objetivos e justificativa do projeto:

O *T. gondii*, protozoário de prevalência mundial, transmitido na forma de oocistos encontrados unicamente nas fezes dos felídeos selvagens e gatos domésticos. Constitui preocupação em saúde pública, principalmente pelo risco da transmissão congênita. Recentes pesquisas, com ênfase no *T. gondii*, realizadas em Goiânia e em outras cidades do Estado de Goiás vêm demonstrando que há uma alta prevalência do parasito nos materiais biológicos estudados, sendo que 64% dos gatos capturados pelo Centro de Zoonoses de Goiânia eram soropositivos para o protozoário, colocando 34,2% das gestantes em risco de adquirirem a toxoplasmose, tornando, então, importante a continuidade dos estudos no Estado de Goiás. Assim, esta pesquisa tem por objetivo geral estudar a epidemiologia molecular da toxoplasmose em gatos errantes no Estado de Goiás, realizando a caracterização molecular de isolados de *T. gondii* encontrados em suas amostras biológicas. São objetivos específicos:

- Identificar o *T. gondii* em tecidos e fezes de gatos errantes em Goiânia, Go; por meio da reação de PCR, análises sorológicas e técnicas parasitológicas.
- Inocular e isolar, em camundongos, cepas de *T. gondii* oriundas de tecidos de gatos.
- Realizar pela técnica de PCR-RFLP a genotipagem de isolados de *T. gondii* obtidos de tecidos (coração, intestino e cérebro);

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP: 74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1876.
Email: ceua.ufg@gmail.com



- Avaliar a acurácia de diferentes técnicas imunológicas aplicadas na identificação do *T. gondii* em amostras biológicas de gatos domésticos.

IV - Sumário do projeto:

Discussão sobre a não utilização de métodos alternativos e necessidade do número de animais:

Não há possibilidade de métodos alternativos que dispensem o uso de animais, haja visto que o isolamento do parasito *Toxoplasma gondii* é realizada a partir de amostras biológicas de gatos, seu hospedeiro definitivo. Para a realização da caracterização molecular é necessário que haja a inoculação e o isolamento em camundongos para a aquisição das formas taquizoíticas do parasito, que permitem os estudos moleculares.

Grau de Invasividade: GI I

Animal utilizado e fonte de obtenção. Deixar explícita a espécie animal, o número total de animais utilizados e o número de animais para cada experimento.

Serão utilizados um total de cinquenta (50) gatos domésticos (*Felis catus domesticus*), jovens, de aproximadamente 2 kg, sendo 25 machos e 25 fêmeas. Estes animais serão cedidos pelo Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia, correspondendo ao número de gatos infectados capturados e sacrificados pelo CCZ. Para a inoculação e isolamento do *T. gondii*, foi estimado um número de 3 camundongos BALB/c por gato, fornecidos pelo Biotério do IPTSP/UFG, totalizando 150 camundongos de um (1) mês, de aproximadamente 25 gramas, sendo 75 machos e 75 fêmeas. Não serão utilizados animais para treino ou em projeto piloto.

Descrição das instalações utilizadas e número de animais/área/qualidade do ambiente (ar, temperatura, umidade), alimentação/hidratação:

- Os gatos serão coletados e mantidos em instalações do próprio Centro de Controle de Zoonoses
- Os camundongos serão mantidos nas instalações do Biotério do IPTSP/UFG, em macroambiente com temperatura de 22 °C, umidade de 55% e luminosidade controlada em ciclo circadiano de 12 horas claro e 12 horas escuro. O microambiente será em gaiolas de polipropileno com cama de maravilha e com enriquecimento ambiental de papel picado, cano de PVC e rolinhos de papel. Serão acondicionados 3 animais por caixa, onde terão água e alimentação à vontade

Procedimentos experimentais do projeto de pesquisa.

- Uso de fármacos anestésicos:

Para anestesia e eutanásia dos gatos: 1) Tiopental sódico - Dose (UI ou mg/kg) 25mg/Kg; Via de administração: intramuscular; 2) Injeção intracardíaca de cloreto de potássio.

- Uso de fármacos analgésicos: Não.

- Cirurgias Múltiplas: Não

- Pós-Operatório: Não.

Métodos utilizados para minimizar o sofrimento e aumentar o bem-estar dos animais antes, durante e após a pesquisa. Pontos Finais Humanitários.

A pesquisa pretende evitar sofrimento e dor aos animais. Camundongos serão manipulados e observados por pesquisadores experientes e um médico veterinário. Também haverá um monitoramento da temperatura, umidade, alimentação e necessidades sociais, como viver em grupo. Caso os animais de uma caixa morram, restando apenas um camundongo, o mesmo será transferido para uma caixa transparente para que ele possa observar outros animais da mesma espécie. Assim que os camundongos infectados apresentarem sintomatologia específica da doença, o mesmo será eutanasiado.

Riscos aos professores/alunos (físicos, biológicos, psicológicos e sociais).

A pesquisadora informa que todos os pesquisadores e alunos envolvidos no estudo estarão sujeitos a riscos de contaminação pela má utilização de EPIs. Também evidencia o risco psicológico pelos procedimentos de eutanásia que os animais são submetidos. Para minimizar esses riscos, haverá um controle quanto ao risco dos EPIs e acompanhamento quanto aos procedimentos de eutanásia, sendo estes realizados pelos alunos inexperientes, apenas quando se sentirem seguros.

Descrição do método de eutanásia (caso se aplique) e destino dos animais após a aula prática.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP: 74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1876.

Email: ceua.ufg@gmail.com



Os gatos serão submetidos a anestesia intramuscular com tiopental sódico 25 mg/kg, seguido de injeção intracardíaca de cloreto de potássio. Após a eutanásia e retiradas dos órgãos já descritos, as carcaças serão enviadas ao aterro sanitário de Goiânia. A eutanásia dos camundongos ocorrerá por deslocamento cervical. As carcaças dos camundongos serão incineradas no crematório da EVZ/UFG.

V – Comentários do relator frente às orientações da CEUA:

- Quanto a documentos: O protocolo é composto pela Ficha de Protocolo do Projeto (p. 01-21), pelo Termo Responsabilidade assinados por todos os pesquisadores (p. 22), pela Certidão de Ata (p. 23), pelo Termo de Consentimento de Utilização de Animais em Projeto de Pesquisa, emitido pelo CCZ (p. 24) e por um CD com todos os itens do protocolo físico e declarações gravados em mídia digital.

VI - Parecer da CEUA:

Após apreciação dos esclarecimentos sobre as dimensões das caixas de acondicionamento dos camundongos, do volume de sangue que será coletado dos gatos, de quais materiais biológicos serão extraídos, do período de realização da pesquisa e do tipo de papel que será utilizado para enriquecimento ambiental, consideramos o projeto **APROVADO**.

Informação aos pesquisadores:

Reiteramos a importância deste Parecer Consustanciado, e lembramos que a pesquisadora responsável deverá encaminhar à CEUA-PRPI-UFG o *Relatório Final* baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, a qual está prevista para finalizar suas ações até 30 de Agosto de 2018.

VII - Data da reunião: 11/07/2016

Dra. Marina Pacheco Miguel
Coordenadora da CEUA/PRPI/UFG

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP: 74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1876.
Email: ceua.ufg@gmail.com