

Toxoplasma gondii: soroprevalência e fatores de risco em ovelhas no planalto serrano de Santa Catarina, Brasil

Toxoplasma gondii: seroprevalence and risk factors in ewes in the mountainous plateau of Santa Catarina, Brazil

RIALA6/1654

Anderson Barbosa de MOURA*, Marcio Orides da SILVA, Natascha TREVISANI, Antonio Pereira de SOUZA, Amélia Aparecida SARTOR, Rosiléia Marinho de QUADROS

*Endereço para correspondência: Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina. Av. Luiz de Camões, 2090, Lages, SC, Brasil, CEP: 88520-000. Tel: 49 3289-9119. E-mail: anderson.moura@udesc.br

Recebido: 13.04.2015 - Aceito para publicação: 27.07.2015

RESUMO

Toxoplasma gondii pode causar problemas reprodutivos em ovinos. Com os objetivos de determinar a soroprevalência de *T. gondii* e de identificar os fatores de risco da infecção, foram coletadas 1308 amostras de sangue de ovelhas em idade reprodutiva (≥ 18 meses), em 92 propriedades de 30 municípios da mesorregião serrana de Santa Catarina-Brasil, para realizar a pesquisa de anticorpos específicos por meio de reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Informações dos animais (manejo, frequência e tipo de transtornos reprodutivos, dieta e contato com gatos) foram obtidas por meio de questionário. Os dados foram analisados pelos testes exato de Fisher e do qui-quadrado ($p < 0,05$). Das 1308 amostras analisadas, 55,9 % (731/1308) apresentaram anticorpos IgG anti-*T. gondii*, nas diluições de 1:64 a 1:4096. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as propriedades ou municípios avaliados, tampouco na correlação entre os resultados de sorologia e as variáveis raça e contato com gatos. Correlação positiva ($p = 0,003$) foi verificada entre a soropositividade e a dieta exclusiva de pasto nativo. Tendência ($p = 0,07$) de maior soroprevalência entre os animais com desordens reprodutivas foi observada. A infecção por *T. gondii* em ovelhas está amplamente disseminada na mesorregião serrana de Santa Catarina, o que representa risco para a saúde pública.

Palavras-chave. *Toxoplasma gondii*, ovelhas, prevalência, Santa Catarina.

ABSTRACT

Sheep are highly susceptible to *Toxoplasma gondii* infection, and it might cause reproductive problems in infected ewes. Aiming at determining the prevalence and identifying the risk factors for this infection, 1308 blood samples from ewes (≥ 18 months), in 92 properties in 30 municipalities in a mountainous environment of Santa Catarina state-Brazil, were collected for performing anti-*T. gondii* antibodies testing by indirect immunofluorescence assay (IFA). A standardized questionnaire was used to obtain information on risk factors (management, frequency and type of reproductive disorders, diet and contact with cats); these data were analyzed by Fisher exact and the chi-square tests ($p < 0.05$). IgG anti-*T. gondii* was detected in 55.9 % (731/1308) of analyzed samples, whose dilution ranged from 1:64 to 1:4096. No statistically significant differences in seroprevalence ($p > 0.05$) were observed neither between the assessed properties and municipalities, nor on the correlation between anti-*T. gondii* serology results and the variables race and contact with cats. Positive correlation ($p = 0.003$) was found between high seropositivity rate and exclusive native grasses diet. Trend ($p = 0.07$) of highest prevalence among animals with reproductive disorders was observed. *T. gondii* infection in ewes has been widespread in the mountainous region of Santa Catarina, which has represented a risk to public health.

Keywords. *Toxoplasma gondii*, ewes, prevalence, state of Santa Catarina.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença de caráter zoonótico de distribuição mundial, causada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário capaz de parasitar animais homeotérmicos, como hospedeiros intermediários e somente os membros da Família *Felidae* (domésticos e selvagens), como hospedeiros definitivos, mas que também podem atuar como hospedeiros intermediários¹. Ocorre em animais de estimação e de produção, incluindo ovinos, caprinos, bovinos, aves, além de animais silvestres.

O agente foi descrito em 1908 por Nicolle e Manceaux, em roedores na Tunísia e, no mesmo ano, por Splendore, em São Paulo (Brasil) em coelhos. Em seguida, mais de 80 espécies animais, incluindo o ser humano foram encontradas parasitadas². É um protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao filo Apicomplexa, classe *Sporozoa* e família *Sarcocystidae*.

O primeiro relato de toxoplasmose em ovinos foi feito por Olafson e Monlux, em 1942, nos Estados Unidos da América³. Nesta espécie animal, *T. gondii* é responsável por causar problemas reprodutivos (morte embrionária, reabsorção, mumificação fetal, aborto, natimorto e morte de recém-nascidos). Grande parte destas alterações é dependente da cepa, quantidade do inóculo e o estágio da gestação em que a transmissão transplacentária ocorre é crítico para determinar as consequências da infecção. Lesões vasculares na placenta parecem estar associadas com abortos na fase aguda da infecção⁴. A importância da transmissão transplacentária endógena em ovelhas persistentemente infectadas e seu significado clínico ainda são objetos de debates⁵.

Embora Hide et al⁶ descrevam que a transmissão vertical em ovinos tem grande importância, a principal forma de infecção nesta espécie animal ocorre pela via horizontal⁷. Após a ingestão de oocistos o protozoário se multiplica na submucosa intestinal e linfonodos e rapidamente se dissemina, através do sangue e linfa, para outros órgãos⁸. Ovinos podem apresentar diarreia, dispneia e corrimento nasal com recuperação 14 dias pós-infecção⁹.

De acordo com Millar et al¹⁰, a toxoplasmose nesses pequenos ruminantes encontra-se amplamente distribuída em todo território nacional. A infecção toxoplásmica nesta espécie é fato de grande preocupação, pois apresenta importância zoonótica¹¹ podendo ser transmitida ao ser humano por meio do consumo carne e/ou leite, bem como seus derivados sem tratamento térmico adequado.

A maioria do rebanho ovino catarinense é distribuída em pequenas propriedades com poucos animais que são utilizados para suprimento de carne e leite, demandando baixa tecnificação. Em muitos casos, há o consumo dos produtos de origem ovina na própria fazenda, de forma a propiciar a infecção por agentes patogênicos, incluindo *T. gondii*. Dessa forma, se faz importante o conhecimento da distribuição dos agentes patogênicos causadores de zoonoses para correta adoção de medidas preventivas. Assim, os objetivos do presente estudo foram determinar a prevalência de anticorpos da classe IgG contra *T. gondii* em ovelhas da mesorregião serrana de Santa Catarina e identificar possíveis fatores de risco para a infecção.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de abril a outubro de 2014, foram colhidas 1308 amostras de sangue de ovelhas em idade reprodutiva (≥ 18 meses), em 92 propriedades de 30 municípios da mesorregião serrana do Estado de Santa Catarina, para obtenção de soro, que foi armazenado (-20 °C) até a realização da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para a detecção de anticorpos contra *T. gondii*.

A mesorregião Serrana é uma das seis mesorregiões do estado de Santa Catarina. Apresenta localização central e é formada pela união de trinta municípios agrupados em duas microrregiões (Campos de Lages e Curitibaanos). De acordo com a classificação de Koeppen, o tipo climático é predominantemente Cfb – Temperado (mesotérmico úmido e verão ameno) e Cfa – Subtropical (mesotérmico úmido, com verão quente) nos municípios de menor altitude.

A temperatura média anual varia entre 13 e 14 °C nas regiões mais frias e 17 e 18 °C nas de menor altitude, enquanto que a precipitação média anual varia entre os 1300 a 1.800 mm/ano e a umidade relativa do ar oscila entre os 76 % e 78 %.

O rebanho ovino da mesorregião serrana do Estado de Santa Catarina é composto de 73.032 animais¹². A amostragem foi constituída de 1308 animais, considerando-se uma prevalência esperada de 30 %, erro de 2,5 % e nível de confiança de 95 %¹³. A distribuição das amostras foi realizada de acordo com o tamanho dos rebanhos em cada propriedade/município e a colheita foi feita de forma aleatória dentro de cada propriedade.

A detecção de anticorpos IgG contra *T. gondii* foi realizada pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), conforme técnica descrita por Camargo¹⁴, utilizando-se como antígenos taquizoítos da cepa RH do protozoário, obtidos a partir do lavado intraperitoneal de camundongos. Foram consideradas positivas as amostras que reagiram na diluição $\geq 1:64$ ¹⁵ e estas foram tituladas por diluição sequencial, em múltiplos de quatro, até a maior diluição reagente. Incluíram-se em todas as reações realizadas, para cada lâmina, soros controles positivo e negativo para comparação.

Informações dos animais foram obtidas por meio da aplicação de questionários aos proprietários no dia da colheita de sangue e foram relacionadas ao manejo, frequência e tipo de transtornos reprodutivos nos últimos 12 meses, dieta e contato com gatos.

Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente pelo teste exato de Fisher¹⁶ e pelo teste de qui-quadrado ($p < 0,05$) para correlacionar os resultados com os fatores de risco analisados e/ou desordens reprodutivas.

Este estudo foi conduzido dentro dos padrões exigidos pela Lei Federal 11.794 de 08 de outubro de 2008, pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos - DBCA de 2013 e pelas Resoluções Normativas n^{os} 12, 13 e 14.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) do CAV/UEDESC Protocolo 1.35/09,

em 29 de Setembro de 2009.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 1308 amostras de soro analisadas, 55,9 % (731/1308) apresentaram anticorpos IgG contra *T. gondii*. As amostras positivas apresentaram títulos de anticorpos de 1:64 (327; 44,7 %); 1:256 (289; 39,5 %); 1:1024 (95; 13 %) e 1:4096 (20; 2,8 %). Com exceção de uma propriedade, todas apresentaram no mínimo um animal positivo e em todos os 30 municípios avaliados foram identificados animais reagentes.

O uso da sorologia para a demonstração de anticorpos contra *T. gondii* apresenta grande valor, uma vez que existem limitações para a realização dos diagnósticos parasitológico, molecular e/ou clínico¹⁷. A adoção da diluição de 1:64 como ponto de corte foi empregada considerando-se diminuir a ocorrência de reações cruzadas com outros coccídeos.

No Brasil, a prevalência da toxoplasmose ovina varia de 18,59 %¹⁸ a 61 %¹⁹. Esses resultados discrepantes podem ser decorrentes da técnica e/ou ponto de corte empregados, da amostragem (número, idade e/ou categoria dos animais, manejo) assim como da região geográfica de origem dos animais avaliados. No presente estudo, foram avaliadas somente ovelhas em idade reprodutiva (≥ 18 meses idade).

Altos títulos de anticorpos contra *T. gondii*, associados com abortos e natimortos em ovinos já foram descritos²⁰. Em um rebanho ovino no Egito, em que 35,6 % das ovelhas apresentaram abortos, a sorologia de todos os animais que abortaram foi positiva para *T. gondii*²¹.

Na Grécia, de 289 ovelhas, criadas em sistema semi-intensivo (com menor possibilidade de contato com gatos jovens) e com histórico de aborto, 144 (49,8 %) foram positivas para *T. gondii*²². No Brasil, Gabardo et al²³ descreveram um surto de aborto em ovelhas devido ao *T. gondii*. Esses dados fazem pressupor que a sorologia para *T. gondii* em ovelhas é importante ferramenta diagnóstica e que abortos em ovelhas devem ser investigados levando-se em consideração *T. gondii*.

A análise dos fatores de risco não identificou diferenças estaticamente significativas entre as 92 propriedades ou entre os 30 municípios avaliados. Não foi observada ($p > 0,05$) correlação entre sorologia positiva para *T. gondii* e as variáveis raça e contato com gatos (Tabela 1).

Correlação fortemente positiva ($p = 0,003$) foi observada entre os animais soropositivos e a dieta exclusiva de pasto nativo (Tabela 1), sugerindo que a contaminação dos pastos com formas infectantes (oocistos) tem papel importante na disseminação da enfermidade entre os animais avaliados. Dentre as ovelhas soropositivas, 83,2 % são mantidas unicamente em pastagens, sem fornecimento de qualquer suplementação e, dentre estas, a positividade foi de 57,9 % contra 47,7 % dos animais que recebiam algum tipo de concentrado. Em um surto de toxoplasmose ovina na Itália, Zedda et al⁷ verificaram, por meio da técnica de PCR, que a pastagem, assim como a ração, estavam contaminadas com o agente. Katzer et al²⁴ relataram que a contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* pode ser significativa. Rizo et al²⁵ também descreveram que o uso exclusivo de pastagem aumenta o risco de infecção dos animais.

Ainda que 72,5 % das ovelhas soropositivas não tenham apresentado desordens reprodutivas,

a análise estatística (teste exato de Fischer) revelou tendência ($p = 0,07$) de alta soroprevalência entre os animais que apresentaram abortos, retorno ao cio e/ou natimortos. Entre as ovelhas com problemas reprodutivos, 52,2 % foram soropositivas para *T. gondii*.

Embora a sorologia isolada não possa ser utilizada como método diagnóstico definitivo, os resultados de levantamentos de prevalência da infecção são relevantes, pois mesmo em um estudo, cujo resultado revelou uma baixa prevalência (3,1 % - ELISA) de anticorpos IgG contra *T. gondii*, a infecção toxoplásmica em ovinos pode ser parcialmente responsável por abortos e perdas econômicas nesta espécie²⁶.

A infecção primária nem sempre gera imunidade protetiva contra a infecção fetal e/ou abortos nas gestações subsequentes²⁷ e, embora fetos ovinos apresentem capacidade para desenvolver uma resposta imune ao redor de 60 dias de gestação, esta não é suficiente para conferir proteção até o último mês antes do nascimento²⁸, ressaltando assim a importância de estudos de soroprevalência da toxoplasmose em ovinos.

Também, ovelhas soropositivas podem transmitir *T. gondii* para sua prole, via infecção transplacentária. Estudos recentes mostram que a transmissão congênita de *T. gondii* em ovinos pode ser mais comum do que se pensava^{29,30}.

Tabela 1. Prevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* (RIFI ≥ 50) em ovelhas no planalto serrano de Santa Catarina, Brasil. Por variável analisada e total. Lages, SC, 2015

Variável / Categoria		Animais		Positivos ¹		Positivos ²		p
		n	%	n	%	n	%	
Raça	Mestiça	974	74,5	552	56,7	552	75,5	0.3386
	Definida	334	25,5	179	53,6	179	24,5	
Dieta	Pastagem	1050	80,3	608	57,9	608	83,2	0.003286
	Suplementação	258	19,7	123	47,7	123	16,8	
Problemas Reprodutivos	Sim	381	29,1	199	52,2	199	27,2	0.0748
	Não	917	70,1	530	57,8	530	72,5	
	Não informado	10	0,8	2	20,0	2	0,3	
Contato com gatos	Sim	999	76,4	554	55,5	554	75,8	0.3533
	Não	299	22,8	175	58,5	175	23,9	
	Não informado	10	0,8	2	20,0	2	0,3	
Total		1308	100,0	731	-	731	100,0	

¹ Relação entre o total de animais positivos de uma categoria e o total de animais da categoria; ² Relação entre o total de animais positivos de uma categoria e o total de animais positivos; p: Nível descritivo no Teste exato de Fischer

Em cordeiros, congenitamente infectados, a toxoplasmose pode cursar com sinais neurológicos severos e morte³¹.

Além dos sinais clínicos, que podem resultar em perdas para os proprietários, ovinos infectados com *T. gondii* representam importante fonte de infecção para o ser humano, por meio da ingestão de carne crua ou mal cozida com cistos teciduais do parasito e também de leite e derivados lácteos consumidos crus, sem fervura ou pasteurização, uma vez que o agente pode estar presente no leite de ovelha infectadas³². Yldz et al³³, Boughattas et al³⁴ e Gebremedhin et al³⁵ observaram correlação entre sorologia para *T. gondii* e a presença de cistos teciduais em ovinos naturalmente infectados. Esses autores detectaram cistos teciduais de *T. gondii* em aproximadamente 50 % dos ovinos soropositivos.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a infecção por *T. gondii* em ovelhas é amplamente disseminada na mesorregião serrana de Santa Catarina e que a manutenção de animais exclusivamente a pasto é um fator de risco para a toxoplasmose ovina que, além de causar prejuízos econômicos, também pode contribuir para a infecção do ser humano, representando risco para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. Martins CS, Viana JA. Toxoplasmose – o que todo profissional de saúde deve saber. *Clin Vet*.1998;3(15):33-7.
2. Dubey JP. *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming of human and animals. *In*: Kreier JP. Parasitic protozoa. 2ª ed. San Diego: Academic Press; 1993. p.1-157.
3. Fialho CG, Teixeira MC, Araújo FAP. Toxoplasmose animal no Brasil. *Acta Sci Vet*. 2009;37(1):1-23.
4. Castaño P, Fuertes M, Ferre I, Fernandez M, Ferreras MC, Moreno-Gonzalo J, et al. Placental thrombosis in acute phase abortions during experimental *Toxoplasma gondii* infection in sheep. *Vet Res*.2014;45(1):9. [DOI: 10.1186/1297-9716-45-9].
5. Innes EA, Bartley PM, Buxton D, Katzer F. Ovine toxoplasmosis. *Parasitology*.2009;136(14):1887-94. [DOI: 10.1017/S0031182009991636].
6. Hide G, Morley EK, Hughes JM, Gerwash O, Elmahaishi MS, Elmahaishi KH, et al. Evidence for high levels of vertical transmission in *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*.2009;136(14):1877-85. [DOI: 10.1017/S0031182009990941].
7. Zedda MT, Rolesu S, Pau S, Rosati I, Ledda S, Satta G, et al. Epidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection in ovine breeding. *Zoonoses Public Health*.2010;57(7-8):e102-8. [DOI: 10.1111/j.1863-2378.2009.01292.x].
8. Winter A, Clarkson M. The pregnant ewe. *In*: Winter A, Clarkson M. A handbook for the sheep clinician. 7 ed. Oxfordshire: CAB International.2012:35-47. [DOI: 10.1079/9781845939731.0000].
9. Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. 2ª ed. Maryland: Boca Raton; 2010.
10. Millar PR, Sobreiro LG, Bonna ICF, Amendoeira MRR. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. *Semina: Cienc Agr*.2008;29(3):693-706. [DOI: 10.5433/1679-0359.2008v29n3p693].
11. Khater HF, Khalifa NO, Barakat AMA. Serological and molecular studies of ovine and human toxoplasmosis with a trial of treatment of infected ewe. *Sci J Vet Adv*.2013;2(11):157-68. [DOI: 10.14196/sjvs.v2i11.1080].
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Censo Agropecuário 2013 [acesso 2014 Mar 04]. Disponível em: [http://sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=3939&z=t&o=24&i=P>].
13. Organización Panamericana de la Salud– OPAS. Bioestadística: procedimientos para estudios de prevalencia por muestreo. Buenos Aires: Organización Panamericana de La Salud.1979.
14. Camargo ME. Introdução as técnicas de imunofluorescência. *Rev Bras Patol Clin*. 1974;10(3):87-107.

15. Silva JG, Alves BHLS, Melo RPB, Kim PCP, Souza Neto OL, Bezerra MJG, et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and parasite DNA in raw milk of sheep and goats of local breeds reared in Northeastern Brazil. *Acta Trop*.2015;142:145-8. [DOI: 10.1016/j.actatropica.2014.11.011].
16. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: [http://www.R-project.org. 2009].
17. Langoni H, Camossi L, Greca H, Correa A, Silva R. Humoral response of ewes naturally infected with *Toxoplasma gondii* in Brazil. XIV International Congress of the International Society for Animal Hygiene (ISAH). Sustainable animal husbandry: prevention is better than cure, Volume 2; July 2009, Vechta: Proceedings. p. 789-91.
18. Silva R, Ullmann L, Guimaraes F, Greca H, Gaio F, Rosa E, et al. Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sheep from Sao Paulo State, Brazil. XIV International Congress of the International Society for Animal Hygiene (ISAH). Sustainable animal husbandry: prevention is better than cure, Volume 2; July 2009, Vechta: Proceedings. p. 793-6.
19. Rossi GF, Cabral DD, Ribeiro DP, Pajuaba ACAM, Corrêa RR, Moreira R.Q et al. Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil, by different serological methods. *Vet Parasitol*. 2011;175(3-4):252-9. [DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.10.017].
20. Hussein MF, Almufarrej SI, Aljumaah RS, Al-Saiady MY, Elnabi AGAR, Abu TSZ. Serological prevalence of *Toxoplasma gondii* and its association with abortion in sheep in Saudi Arabia *Acta Vet*.2011;61(4):405-14. [DOI: 10.2298/AVB1104405H].
21. Ahmed YF, Sokkar SM, Desouky HM, Soror AH. Abortion due to toxoplasmosis in small ruminants. *Glob Vet*.2008;2(6):337-42. [DOI: 10.1007/s11250-011-9885-2].
22. Bisias G, Burriel AR, Boutsini S, Kritas SK, Leontides LS. A serological investigation of some abortion causes among small ruminant flocks in Greece. *J Vet Med*.2009;8(2):unpaginated. [DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.07.020].
23. Gabardo MP, Oliveira JSV, Ecco R, Guedes RMC. Outbreak of ovine abortion by toxoplasmosis in southeastern Brazil. *Braz J Vet Pathol*.2013;6(1):37-41. [DOI: 10.1590/S0100-736X2011001100001].
24. Katzer F, Brulisauer F, Collantes-Fernandez E, Bartley PM, Burrells A, Gunn G, et al. Increased *Toxoplasma gondii* positivity relative to age in 125 Scottish sheep flocks; evidence of frequent acquired infection. *Vet Res*.2011;42:121. [DOI: 10.1186/1297-9716-42-121].
25. Rizzo H, Gregory L, Beraldi F, Villalobos E. Análise de fator de risco e avaliação clínica de ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos pertencentes a criatórios do Estado de São Paulo, infectados por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*. *Vet Zoo*.2011;18(4):908-11.
26. Heidari H, Gharekhani J, Tavoosidana G. Role of toxoplasmosis in abortion of ewes in western Iran: a serological study. *Sci Parasitol*.2013;14(2):99-103. [DOI: 10.3923/ajas.2012].
27. Morley EK, Williams RH, Hughes JM, Thomasson D, Terry RS, Duncanson P, et al. Evidence that primary infection of Charollais sheep with *Toxoplasma gondii* may not prevent foetal infection and abortion in subsequent lambings. *Parasitol*.2008;135(2):169-73. [DOI: 10.1017/S0031182007003721].
28. Buxton D, Finlayson J. Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus. *J Comp Pathol*.1986;96(3):319-33. [DOI: 10.1016/0021-9975(86)90052-6].
29. Edwards JF, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* abortion storm in sheep on a Texas farm and isolation of mouse virulent atypical genotype *T. gondii* from an aborted lamb from a chronically infected ewe. *Vet Parasitol*.2013;192(1-3):129-36. [DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.09.037].
30. Lopes WDZ, Rodriguez JD, Souza FA, Santos TR, Santos RS, Rosanese WM et al. Sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in sheep. *Vet Parasitol*.2013;195(1-2):47-56. [DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.12.056].
31. Atmaca HT, Ocal N, Babur C, Kul O. Reactivated and clinical *Toxoplasma gondii* infection in young lambs: clinical, serological and pathological evidences. *Small Rumin Res*.2012;105(1-3):335-40. [DOI: 10.1016/j.smallrumres.2012.02.009].

32. Camossi LG, Greca-Júnior H, Corrêa AP, Richini-Pereira VB, Silva RC, Da Silva AV et al. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the milk of naturally infected ewes. *Vet Parasitol*.2011;177(3-4):256-61. [DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.12.007].

33. Yldz K, Kul O, Gokpnr S, Atmaca HT, Gencay YE, Gazyagc A, et al. The relationship between seropositivity and tissue cysts in sheep naturally infected with *Toxoplasma gondii*. *Turk J Vet Anim Sci*.2014;38(2):169-75. [DOI: 10.3906/vet-1308-49].

34. Boughattas S, Ayari K, Sa T, Aoun K, Bouratbine A. Survey of the parasite *Toxoplasma gondii* in human consumed ovine meat in Tunis City. *PLoS One*.2014;9(1):e85044. [DOI: 10.1371/journal.pone.0085044].

35. Gebremedhin EZ, Abdurahaman M, Tessema TS, Tilahun G, Cox E, Goddeeris B et al. Isolation and genotyping of viable *Toxoplasma gondii* from sheep and goats in Ethiopia destined for human consumption. *Parasit Vectors*.2014;7:425. [DOI: 10.1186/1756-3305-7-425].