



# Występowanie zarażenia *Toxoplasma gondii* wśród wolnożyjących drobnych gryzoni i ssaków owadożernych na terenie Lubelszczyzny; rola tych zwierząt w epidemiologii toksoplazmozy

Occurrence of *Toxoplasma gondii* infection among free-living small rodents and insectivores in the Lublin Province – the role of these animals in epidemiology of toxoplasmosis

Jacek Sroka<sup>1, A-F</sup>

<sup>1</sup> Instytut Medycyny Wsi, Lublin, Polska

A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych, D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Sroka J. Występowanie zarażenia *Toxoplasma gondii* wśród wolnożyjących drobnych gryzoni i ssaków owadożernych na terenie Lubelszczyzny; rola tych zwierząt w epidemiologii toksoplazmozy. Med Og Nauk Zdr. 2021; 27(4): 448–452. doi: 10.26444/monz/143316

## ■ Streszczenie

**Wprowadzenie i cel pracy.** Wolnożyjące drobne gryzonie i ssaki owadożerne stanowią ważny element pożywienia dla wielu gatunków zwierząt mięso- i wszystkożernych, przyczyniając się do rozprzestrzeniania inwazji pasożyta *Toxoplasma gondii* w środowisku. Celem badań była ocena występowania zarażenia *T. gondii* w populacji wolnożyjących drobnych ssaków z terenu woj. lubelskiego oraz określenie ich potencjalnego znaczenia w rozprzestrzenianiu tej inwazji w środowisku. Badania przeprowadzono w oparciu o detekcję i analizę DNA pasożyta izolowanego z próbek tkanek tych zwierząt.

**Materiał i metody.** W ramach pracy pozyskano 60 padłych gryzoni i ssaków owadożernych z terenu woj. lubelskiego, należących do 7 gatunków. Z próbek narządów zwierząt wyizolowano DNA przy pomocy zestawu komercyjnego (QIAGEN). Badania na obecność DNA *T. gondii* wykonano przy użyciu metody nested PCR oraz real-time PCR w oparciu o amplifikację fragmentu genu B1. W celu określenia typu klonalnego pasożyta wybrane izolaty DNA badano metodą RFLP PCR z użyciem 12 markerów genetycznych. Produkty amplifikacji wybranych próbek poddano analizie sekwencyjnej i filogenetycznej.

**Wyniki.** Ogółem wśród badanych w nested PCR i/lub real-time PCR 180 próbek narządów pobranych od 60 zwierząt, obecność DNA *T. gondii* stwierdzono w narządach pochodzących od 10 gryzoni (16,7%). Badanie RFLP-PCR i analiza sekwencyjna wykazały obecność typu klonalnego II i III *T. gondii* w większości badanych próbek.

**Wnioski.** Uzyskane wyniki badań wskazują na znaczny stopień zarażenia wolnożyjących drobnych ssaków (w szczególności gryzoni) z terenu Lubelszczyzny pierwotniakiem *Toxoplasma gondii* (16,7%), co potwierdza istotną rolę tych zwierząt jako rezerwuaru i wektora pasożyta w środowisku.

## ■ Słowa kluczowe

*Toxoplasma gondii*, PCR, toksoplazmoza, RFLP-PCR, wolnożyjące gryzonie, ssaki owadożerne

## ■ Abstract

**Introduction and objective.** Free-living small rodents and insectivores are an important part of the diet of many species of carnivores and omnivores, contributing to the spread of *T. gondii* infections in the environment. The aim of the study was to assess the occurrence of *T. gondii* infection in the free-living small mammals population from the Lublin Province, and to determine their potential importance in spreading this invasion in the environment. The research was based on the detection and analysis of the parasite DNA isolated from tissue samples.

**Materials and method.** Sixty dead, small mammals from the Lublin Province, belonging to 7 species were collected. DNA from animal tissue samples was isolated using a commercial kit (QIAGEN). Tests for the presence of *T. gondii* DNA were performed by nested and Real-time PCR based on the amplification of the B1 fragment gene. To determine the clonal type of the parasite, selected DNA isolates were tested by RFLP PCR with 12 genetic markers. The amplification products of selected samples were subjected to sequencing and phylogenetic analysis.

**Results.** Overall, among 180 tissue samples from 60 small mammals tested in nested and/or Real time PCR, *T. gondii* DNA was found in samples from 10 rodents (16.7%). RFLP-PCR and sequence analysis revealed the presence of *T. gondii* clonal types II and III in the majority of the tested samples.

**Conclusions.** The results of study indicate a high degree of *T. gondii* infection in free-living small mammals (especially rodents) from the Lublin Province (16.7%), and confirm the important role of these animals as a reservoir and vector of the parasite in the environment.

## ■ Key words

*Toxoplasma gondii*, PCR, toxoplasmosis, RFLP-PCR, free-living rodents, insectivores

Adres do korespondencji: Jacek Sroka, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki, ul. Jaczewskiego 2, 20-090 Lublin, Polska  
E-mail: sroka.jacek@imw.lublin.pl

Nadesłano: 12.10.2021; zaakceptowano do publikacji: 25.10.2021; publikacja online: 16.11.2021

## WPROWADZENIE

Inwazja pasożytniczym pierwotniakiem *Toxoplasma gondii* może stanowić poważny problem zdrowotny zwłaszcza dla kobiet w ciąży i osób z osłabioną odpornością. Pierwotne zarażenie kobiety w okresie ciąży związane jest z ryzykiem transmisji pasożytów do płodu i wystąpienia u niego wad rozwojowych (toksoplazmoza wrodzona). U osób z osłabioną odpornością zarażenie *T. gondii* może przybrać formę uogólnioną, często powodującą śmierć. Jednak w większości przypadków toksoplazmozy nabytej u osób immunokompetentnych (ok. 85%) przebieg inwazji jest bezobjawowy, manifestujący się jedynie obecnością swoistych przeciwciał. W Polsce odsetek osób seropozytywnych szacuje się na ok. 30–60%, w zależności od badanej grupy.

Źródłem form inwazyjnych pasożyta obecnych w środowisku (oocyst) jest kot domowy i inne kotowate, wydalające wraz kałem formy dyspersyjne pierwotniaka. Dotychczasowe badania wskazują na znaczną ekstensywność inwazji *T. gondii* wśród kotów w Polsce (do 70%), co potencjalnie może odzwierciedlać dużą częstość inwazji również wśród drobnych ssaków, które często stanowią pokarm kotów. Dane literaturowe, które są dość nieliczne, wskazują jednak na niższą niż oczekiwana częstość inwazji *T. gondii* wśród drobnych gryzoni i ssaków owadożernych w Europie (od kilku do ok. 10%) [1–3]. Także w Polsce brak jest na ten temat wystarczających danych. O znaczeniu tych zwierząt w epidemiologii toksoplazmozy mogą świadczyć m.in. wyniki badań prowadzonych na fermach świń w Holandii, które wykazały, że drobne gryzonie przypadkowo zjadane przez świnię znacznie przyczyniają się do rozpowszechnienia zarażenia tym pasożytem na fermie [2]. W Polsce odsetek świń zarażonych *T. gondii* ocenia się na ok. 11% [4]. Wyniki badań oparte na analizie ryzyka wskazują na surowe mięso i surowe produkty mięsne jako najczęstsze źródła inwazji *T. gondii* ludzi w Europie [5]. Określenie źródeł zarażenia pasożytem w odniesieniu do zwierząt rzeźnych może mieć duże znaczenie w aspekcie ochrony zdrowia konsumentów, natomiast dane dotyczące występowania zarażenia *T. gondii* wśród drobnych gryzoni i ssaków owadożernych mogą przyczynić się do lepszego poznania dróg rozprzestrzeniania się toksoplazmozy w środowisku.

*T. gondii* jest gatunkiem polimorficznym i wykazuje strukturę klonalną. Dotychczasowe badania wskazują na występowanie trzech zasadniczych linii klonalnych *T. gondii* (typy: I, II i III), różniących się zarówno genetycznie, jak i pod względem patogenności. W ostatnich latach zostały wykryte również inne odmiany genetyczne pierwotniaka oraz szczepy atypowe [6]. W Europie, od zwierząt najczęściej izolowany jest typ II, w mniejszym zakresie typ III i typ I (m.in. na Słowacji, we Włoszech i Szwajcarii) [7, 8]. Co więcej, inwazje atypowymi szczepami obserwowano w Ameryce Płd., a w Ameryce Płn. wyodrębniono dodatkowy IV typ pasożyta [9]. Poznanie cech genetycznych szczepów *T. gondii* izolowanych od zwierząt i ze środowiska wzbogaca wiedzę o krążeniu pasożyta w środowisku [10]

## CEL PRACY

Celem badań była ocena występowania zarażenia *T. gondii* w populacji drobnych gryzoni i ssaków owadożernych z terenu woj. lubelskiego na podstawie detekcji DNA

i charakterystyki molekularnej pasożyta oraz określenie potencjalnego znaczenia tych zwierząt w rozprzestrzenianiu inwazji *T. gondii* w środowisku.

## MATERIAŁ I METODY

W ramach badań pozyskano 60 padłych drobnych ssaków, w tym 6 gatunków gryzoni: mysz polną, mysz zaroślową, nornika zwyczajnego, nornicę rudą, polnika burego i mysz leśną oraz 1 gatunek należący do zwierząt owadożernych – ryjówkę aksamitną. Zwierzęta pochodziły z okolic 3 miejscowości z terenu woj. lubelskiego (tab. 1). Drobne ssaki pozyskiwano przy współpracy służb leśnych oraz mieszkańców wsi z terenu Lubelszczyzny.

**Tabela 1.** Liczebności i gatunki pozyskanych zwierząt z poszczególnych miejscowości

Gatunek	Miejscowość	Liczba zwierząt
Mysz polna ( <i>Apodemus agrarius</i> )	Zastów Karczmiski	21
	Skrzynice	18
	Dąbrowa	1
Nornik zwyczajny ( <i>Microtus arvalis</i> )	Skrzynice	1
Polnik bury ( <i>Microtus agrestis</i> )	Zastów Karczmiski	1
Mysz leśna ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	Skrzynice	1
	Zastów Karczmiski	2
Nornica ruda ( <i>Myodes glareolus</i> )	Skrzynice	1
	Dąbrowa	1
Mysz zaroślowa ( <i>Apodemus sylvaticus</i> )	Zastów Karczmiski	4
	Skrzynice	1
Ryjówka aksamitna ( <i>Sorex araneus</i> )	Zastów Karczmiski	2
	Skrzynice	6
Ogółem		60

Źródło: badania własne.

Padłe zwierzęta poddawano sekcjonowaniu, a następnie pobierano próbki narządów: wątroby, nerek i płuc. W kolejnym etapie z próbek narządów zwierząt wyizolowano DNA przy użyciu zestawu komercyjnego QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen) (wg instrukcji producenta). Probki DNA przechowywane były w postaci zamrożonej (w temp. -20°C) do momentu przeprowadzenia dalszych analiz.

Badania na obecność DNA *T. gondii* w próbkach narządów zwierząt (180 próbek) wykonano przy użyciu metody nested PCR wg M.E. Grigg i J.C. Boothroyd (2001) [11] oraz real-time PCR z sondą TaqMan wg M.H. Lin i wsp. (2000) [12], wykrywających fragment genu B1.

Izolaty próbek dodatnich w nested PCR amplifikowano przy użyciu metody RFLP-PCR z wykorzystaniem dodatkowych 12 markerów genetycznych (SAG1, 5'SAG2, 3'SAG2, SAG3, AltSAG2, GRA6, BTUB, C22–8, C29–8, PK-1, L358 i APICO). Otrzymane amplikony trawiono przy użyciu enzymów restrykcyjnych, a następnie produkty trawienia obrazowano na żelu agarozowym w świetle UV w celu określenia typu klonalnego, wg metody C. Su i wsp. (2010) [13].

Produkty amplifikacji wybranych próbek dodatnich dla poszczególnych markerów poddano także analizie sekwencyjnej przy użyciu bazy BLAST oraz analizie filogenetycznej przy użyciu programu Geneious i porównaniu do sekwencji

referencyjnych szczepów: RH (typ I), ME49 (typ II), C56 (typ III) oraz sekwencji atypowych z GenBanku.

Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica 8.0 (Tulsa, OK, USA), przy użyciu testu chi<sup>2</sup>, za istotne przyjmując różnice przy  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Ogółem wśród badanych w nested PCR i real-time PCR próbek narządów pobranych od 60 gryzoni i ssaków owadożernych obecność DNA *T. gondii* stwierdzono w narządach 10 zwierząt (16,7%). W badaniu nested PCR wyniki dodatnie stwierdzono w narządach pochodzących od 6 zwierząt, natomiast w real-time PCR w narządach pobranych od 8 zwierząt. Spośród 10 gryzoni dodatnich w PCR u 9 zwierząt wyniki dodatnie stwierdzono tylko w jednym z 3 badanych narządów. Natomiast w przypadku jednego gryzonia wyniki dodatnie stwierdzono w 2 z 3 badanych narządów. Biorąc

pod uwagę miejsce pochodzenia zwierząt, wyższy odsetek wyników dodatnich w PCR stwierdzono dla zwierząt z miejscowości Zastów Karczmiski – 20% (6/30) – niż dla tych z miejscowości Skrzynice – 14,3% (4/28), jednak bez istotności statystycznej ( $p = 0,5638$ ); gryzonia z Dąbrowy ze względu na ich niewielką liczebność nie były ujęte w analizie statystycznej (tab. 2).

W badaniu RFLP-PCR dla wybranych izolatów DNA, dla jednej z amplifikowanych próbek (nr 27P) otrzymano wyniki dodatnie w reakcjach z użyciem wszystkich 12 markerów. Analiza RFLP-PCR oraz analiza sekwencyjna w przypadku większości użytych markerów (9) w badaniu tej próbki wykazała typ II *T. gondii* oraz dla 2 markerów – odpowiednio typ II/III i typ I. W przypadku próbki nr 55N wyniki dodatnie otrzymano z użyciem 4 markerów, analiza RFLP-PCR wykazała typ III (2 markery) oraz typ II/III (1 marker) i typ I (1 marker). Dla próbki nr 23P wyniki dodatnie otrzymano z użyciem 2 markerów i zidentyfikowano typ III *T. gondii*. Natomiast dla 2 kolejnych próbek (6P i 44W)

**Tabela 2.** Wyniki badań narządów gryzoni i ssaków owadożernych przy użyciu badań nested PCR i real-time PCR

Lp.	Stanowisko pozyskania zwierząt	Gatunek	Wyniki nested PCR/ real-time PCR			
			wątro- ba	nerka	płuca	Ogółem +
1.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / +	- / -	+ (1/3)
2.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
3.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
4.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
5.	Zastów Karczmiski	polnik bury	- / -	- / -	- / -	-
6.	Zastów Karczmiski	normica ruda	- / -	- / -	- / +	+ (1/3)
7.	Zastów Karczmiski	normica ruda	- / -	- / -	- / -	-
8.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
9.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
10.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
11.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
12.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
13.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
14.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
15.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
16.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
17.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
18.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
19.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
20.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
21.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
22.	Zastów Karczmiski	mysz zaroślowa	- / -	- / -	- / -	-
23.	Zastów Karczmiski	mysz zaroślowa	+ / +	- / -	- / +	+ (2/3)
24.	Zastów Karczmiski	mysz zaroślowa	- / -	- / -	+ / -	+ (1/3)
25.	Zastów Karczmiski	mysz zaroślowa	- / +	- / -	- / -	+ (1/3)
26.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
27.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	+ / +	+ (1/3)
28.	Zastów Karczmiski	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
29.	Zastów Karczmiski	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
30.	Zastów Karczmiski	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
31.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
32.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
33.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
34.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
35.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
36.	Skrzynice	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
37.	Skrzynice	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
38.	Skrzynice	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
39.	Skrzynice	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
40.	Skrzynice	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
41.	Skrzynice	ryjówka aksamitna	- / -	- / -	- / -	-
42.	Skrzynice	nornik zwyczajny	- / -	- / -	- / -	-
43.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
44.	Skrzynice	mysz polna	- / +	- / -	- / -	+ (1/3)
45.	Skrzynice	mysz polna	+ / -	- / -	- / -	+ (1/3)
46.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
47.	Skrzynice	mysz polna	+ / +	- / -	- / -	+ (1/3)
48.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
49.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
50.	Skrzynice	normica ruda	- / -	- / -	- / -	-
51.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
52.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
53.	Skrzynice	normica ruda	- / -	- / -	- / -	-
54.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
55.	Skrzynice	mysz polna	- / -	+ / -	- / -	+ (1/3)
56.	Skrzynice	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
57.	Skrzynice	mysz zaroślowa	- / -	- / -	- / -	-
58.	Skrzynice	mysz leśna	- / -	- / -	- / -	-
59.	Dąbrowa	mysz polna	- / -	- / -	- / -	-
60.	Dąbrowa	normica ruda	- / -	- / -	- / -	-
Ogółem			5/60 (8,3%)	2/60 (3,3%)	4/60 (6,7%)	10/60 (16,7%)





[23] i na Słowacji (18,2%) [24]. Odsetek ten jest jednocześnie wyższy niż uzyskany w Czechach (1%) [1], w Serbii (10,4%) [25], w Holandii (10,3%) [2] i w Polsce [26], a także niższy od uzyskanego w badaniach przeprowadzonych w Anglii (53–59%) [27–29].

W obecnych badaniach dominującą odmianą genetyczną *T. gondii* stwierdzoną u gryzoni był typ II i w mniejszym zakresie typ III. Dane literaturowe odnoszące się do charakterystyki molekularnej *T. gondii* izolowanych od gryzoni są raczej nieliczne i dotyczą badań z użyciem pojedynczych markerów genetycznych, m.in. typ II stwierdzono u gryzoni w Anglii (SAG2) [30], a typ I u gryzoni na Słowacji (SAG2) [24].

## WNIOSKI

Uzyskane wyniki badań wskazują na dość znaczny stopień zarażenia wolnożyjących drobnych ssaków pierwotniakiem *Toxoplasma gondii* (16,7%), co potwierdza istotną rolę tych zwierząt jako rezerwuaru i wektora pasożyta w środowisku. Wyniki badań ujawniają także potrzebę wdrażania akcji deratyzacyjnych na fermach hodowlanych celem ograniczenia rozprzestrzeniania się inwazji *T. gondii* wśród zwierząt rzeźnych.

Genotypowanie wybranych produktów amplifikacji wykazało w większości próbek tkanek gryzoni obecność typu II i III *T. gondii*. Uzyskane dane są zbieżne z wynikami innych autorów z Europy, wykazujących przewagę typu II *T. gondii* nad pozostałymi typami wykrywanymi w tkankach drobnych gryzoni. Jednak w celu dokonania pełnej oceny wymagana jest kontynuacja badań obejmujących większą liczbę zwierząt.

## PIŚMIENNICTWO

- Hejlíček K, Literák I, Nezval J. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *J Wildlife Dis.* 1997; 33: 480–485.
- Kijlstra A, Meerburg B, Cornelissen J, et al. The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. *Vet Parasitol.* 2008; 56: 183–190.
- Waindak P, Özbakıs-Beceriklisoy G, Janeczek-Erfurth E, et al. Parasites in brains of wild rodents (Arvicolinae and Murinae) in the city of Leipzig, Germany. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2019; 10: 211–217.
- Sroka J, Karamon J, Wójcik-Fatla A, et al. *Toxoplasma gondii* infection in slaughtered pigs and cattle in Poland: seroprevalence, molecular detection and characterization of parasites in meat. *Parasites Vectors.* 2020; 23: 223. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04106-1>
- Kijlstra A, Jongert E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int J Parasitol.* 2008; 38: 1359–1370.
- Shwab EK, Zhu XQ, Majumdar D, et al. Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping. *Parasitology.* 2014; 141(4): 453–461. [doi.org/10.1017/S0031182013001844](https://doi.org/10.1017/S0031182013001844)
- de Sousa S, Ajzenberg D, Canada N, et al. Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. *Vet Parasitol.* 2006; 135: 133–136.
- Turčeková L, Antolová D, Reiterová K, et al. Occurrence and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in naturally infected pigs. *Acta Parasitol.* 2013; 58: 361–366.
- Khan A, Dubey JP, Su C, et al. Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America. *Int J Parasitol.* 2011; 41: 645–65.
- Karakavuk M, Aldemir D, Mercier A, et al. Prevalence of toxoplasmosis and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains isolated in wild birds of prey and their relation with previously isolated strains from Turkey. *PLoS ONE.* 2018; 13(4): e0196159. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196159>
- Grigg ME, Boothroyd JC. Rapid identification of virulent type I strains of the protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* by PCR restriction fragment length polymorphism analysis at the B1 gene. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 398–400.
- Lin MH, Chen TC, Kuo TT, et al. Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 4121–4125.
- Su C, Schwab EK, Zhou P, et al. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology.* 2010; 137: 1–11.
- Meerburg BG, Singleton GR, Kijlstra A. Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Crit Rev Microbiol* 2009; 35: 221–70. [doi: 10.1080/10408410902989837](https://doi.org/10.1080/10408410902989837)
- Meerburg BG. Rodents are a risk factor for the spreading of pathogens on farms. *Vet Microbiol.* 2010; 142: 464–465.
- Galeh TM, Sarvi S, Montazeri M, et al. Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence in rodents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Vet Sci.* 2020; 7: 461.
- Reiterová K, Antolová D, Zalesny G, et al. Small rodents—Permanent reservoirs of toxocarosis in different habitats of Slovakia. *Helminthologia.* 2013; 50: 20–26.
- Grzybek M, Antolová D, Tołkacz K, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among sylvatic rodents in Poland. *Animals.* 2021; 11: 1048. <https://doi.org/10.3390/ani11041048>
- Meerburg BG, De Craeye S, Dierick K, et al. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in brain tissue of feral rodents and insectivores caught on farms in the Netherlands. *Vet Parasitol.* 2012; 184: 317–20.
- Gotteland C, Chaval Y, Villena I, et al. Species or local environment, what determines the infection of rodents by *Toxoplasma gondii*? *Parasitology.* 2014; 141: 259–68. [doi: 10.1017/S0031182013001522](https://doi.org/10.1017/S0031182013001522)
- Afonso E, Pouille ML, Lemoine M, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in small mammals from the Ardennes region, France. *Folia Parasitol.* 2007; 54: 313–314.
- Araujo JB, da Silva AV, Rosa RC, et al. Isolation and multilocus genotyping of *Toxoplasma gondii* in seronegative rodents in Brazil. *Vet Parasitol.* 2010; 174: 328–331.
- Khademvatan S, Foroutan M, Hazrati-Tappeh K, et al. Toxoplasmosis in rodents: a systematic review and meta-analysis in Iran (2017). *J Infect Public Heal.* 2017; 10: 487–493. [doi: 10.1016/j.jiph.2017.01.021](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.01.021)
- Turčeková L, Hurníková Z, Spišák F, et al. *Toxoplasma gondii* in protected wildlife in the Tatra National Park (TANAP), Slovakia. *Ann Agric Environ Med.* 2014; 21(2): 235–238. [doi: 10.5604/1232-1966.1108582](https://doi.org/10.5604/1232-1966.1108582)
- Vujanic M, Ivovic V, Kataranovski M, et al. Toxoplasmosis in naturally infected rodents in Belgrade, Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11: 1209–1211.
- Sroka J, Karamon J, Wójcik-Fatla A, et al. *Toxoplasma gondii* infection in selected species of free-living animals in Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2019; 26(4): 656–660. [doi: 10.26444/aaem/114930](https://doi.org/10.26444/aaem/114930)
- Marshall PA, Hughes JM, Williams RH, et al. Detection of high levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in natural urban populations of *Mus domesticus*. *Parasitology* 2004; 128: 39–42.
- Hughes JM, Williams RH, Morley EK, et al. The prevalence of *Neospora caninum* and co-infection with *Toxoplasma gondii* by PCR analysis in naturally occurring mammal populations. *Parasitology* 2006; 132: 29–36.
- Murphy RG, Williams RH, Hughes JM, et al. The urban house mouse (*Mus domesticus*) as a reservoir of infection for the human parasite *Toxoplasma gondii*: an unrecognised public health issue? *Int J Environ Health Res.* 2008; 18: 177–185.
- Owen MR, Trees AJ. Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* from chronically infected house (*Mus musculus*) and field (*Apodemus sylvaticus*) mice determined by polymerase chain reaction. *Parasitology* 1998; 116: 299–304.