



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PAULO ROBERTO ROMANELLI

**“ASSOCIAÇÃO DE FATORES E PREVALÊNCIA DE
ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* E *Neospora
caninum* EM OVINOS E CAPRINOS DO PARANÁ E
CARNEIROS REPRODUTORES DO RIO GRANDE DO SUL,
BRASIL”**

PAULO ROBERTO ROMANELLI

**“ASSOCIAÇÃO DE FATORES E PREVALÊNCIA DE
ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* E *Neospora
caninum* EM OVINOS E CAPRINOS DO PARANÁ E
CARNEIROS REPRODUTORES DO RIO GRANDE DO SUL,
BRASIL”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de
Londrina como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro

Londrina
2018

B222d Romanelli, Paulo Roberto.
Gerência de redes – protocolo SNMP / Paulo Roberto Romanelli – Londrina,
2018.
135 f. : il.

Orientador: Itamar Teodorico Navarro.
Dissertação (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de
Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Gerencia de redes – Teses. 2. SNMP. 3 NMS – Teses. 3. Assunto 3 – Teses. I.
Navarro, Itamar Teodorico. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de
Ciências Agrárias. III. Título.

CDU 641:579

PAULO ROBERTO ROMANELLI

**“ASSOCIAÇÃO DE FATORES E PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS
CONTRA *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* EM OVINOS E
CAPRINOS DO PARANÁ E CARNEIROS REPRODUTORES DO RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de
Londrina como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Italmar Teodorico Navarro
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. João Luis Garcia
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Regina Mitsuka Breganó
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Alessandro Pelegrine Minho
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -
EMBRAPA.

Prof. Dr. Werner Okano
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

Londrina, 21 de fevereiro de 2018.

DEDICATÓRIA

DEDICO

A meus pais

Geraldo Antônio Romanelli e

Maria Helena e Silva Romanelli (*in memoriam*),

por todo amor e dedicação.

À minha esposa

Micheline Sahyun Romanelli,

À minha filha

Rebeca Helena Scalassara Romanelli e

À minha irmã

Verônica Mara Romanelli

por todo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que É e Faz, por todo Amor e Presença constantes, pelo Sopro de Vida e Capacitação, por tudo que sou e tenho: família, saúde, amigos, trabalho e estudo. Obrigado.

Aos meus pais Geraldo e Maria Helena (*in memoriam*), pelos exemplos de dedicação extrema que me motivaram a chegar até este tão importante momento.

À minha amada filha Rebeca Helena, razão de minha existência.

À minha esposa Micheline, por toda presença, cumplicidade e compreensão nos momentos mais difíceis desta etapa hoje conquistada.

À minha irmã Verônica, por seu amor e carinho, sobretudo pela confiança em mim depositada.

A todos meus familiares pela compreensão da justificada ausência no convívio.

Ao orientador e amigo, sempre presente em minha vida, Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro, pelo companheirismo e incentivo; por toda partilha de conhecimento e vida, que jamais serão esquecidos.

À amiga querida Prof^a Dr^a Roberta Lemos Freire, pela atenção prestada durante toda a pesquisa, sobretudo pela interpretação dos resultados epidemiológicos. Obrigado pela confiança e estímulo.

À Prof^a Dr^a Regina Mitsuka Breganó por todo apoio e dedicação nas correções do trabalho.

Ao Prof. Dr. João Luis Garcia pelas valorosas sugestões.

Às amigas Fernanda Pinto Ferreira, Marcelle Mareze, Andressa Nascimento e Juliana Oliveira, por toda paciência a mim dispensada e valiosa ajuda na busca dos resultados.

Ao amigo Prof. Dr. Werner Okano (Universidade Norte do Paraná – UNOPAR), pela parceria, sugestões, correções e colaboração direta em etapas importantes do trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária preventiva da UEL, por todo apoio prestado.

Ao amigo fiel Prof. Dr. Alessandro Pelegrine Minho (Cham), desde a graduação, sempre presente e prestativo, depositando em mim sua confiança.

Aos alunos queridos Mariana Kassab, João Lucas Ferreira, Rafael Stolf, Brenda Jeanfelice, Bárbara Loeffler, Gabriela Anteveli, Luiza Schumacher, Nathalia Gomes, Natalia Silva, pelo trabalho e dedicação empenhados nesta pesquisa, com disposição e muita alegria.

Ao amigo/irmão Médico Veterinário João Fernando Zamariola Sanches pela presença incentivadora e ajuda nas correções do texto.

A todos os colegas e professores do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela participação e colaboração direta ou indireta no desenvolver deste trabalho.

Ao Dr. Antonio Cezar da Rocha Cavalcante (EMBRAPA – Sobral) pela confiança em mim depositada na execução desta importante fase do Projeto de Caracterização Zoonosológica da caprinocultura e ovinocultura no Brasil.

Ao grande amigo Prof. Dr. Eduardo Rafael da Veiga Neto por todo incentivo aos meus estudos.

OMANELLI, Paulo Roberto. “ASSOCIAÇÃO DE FATORES E PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM OVINOS E CAPRINOS DO PARANÁ E CARNEIROS REPRODUTORES DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL”. 2018. 126 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

O presente trabalho é parte integrante do Programa Nacional de Caracterização Zoonosológica da caprinocultura e da ovinocultura no Brasil: Epidemiologia, fatores de risco e impacto econômico das enfermidades; objetivando a determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* nos rebanhos ovinos e caprinos do estado do Paraná e carneiros reprodutores do Rio Grande do Sul e os fatores associados a essas enfermidades. Foram colhidas 1617 amostras de soro ovino de 84 propriedades distribuídas em 25 municípios e 597 amostras de soro caprino em 35 propriedades distribuídas em 20 municípios. No estado do Rio Grande do Sul em 225 municípios foram colhidas 1800 amostras de soro de reprodutores ovinos em 705 propriedades. No estado do Paraná para análise dos soros ovinos, utilizou-se a técnica de Elisa indireto para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*. Na análise dos soros caprinos, empregou-se a reação de ELISA indireto para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e também para detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* a técnica de ELISA indireto (Kit comercial). Em relação aos soros de reprodutores ovinos do estado do Rio Grande do Sul, utilizou-se a técnica de Elisa indireto para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e na detecção de anticorpos anti-*N. caninum* foi utilizada a reação de Imunofluorescência indireta (Kit comercial). O rebanho ovino do Paraná apresentou prevalência de 45,94% (743/1617) para *T. gondii*, 17,62% (285/1617) para *N. caninum*, sendo que destas apenas 9,9% (161/1617) foram reagentes para os dois parasitos. No rebanho caprino a prevalência foi de 37,52% (224/597) para *T. gondii* e 7,37% (44/597) para *N. caninum* sendo 3,18% (19/597) dos animais reagentes aos dois parasitos. Os ovinos reprodutores do Rio Grande do Sul apresentaram prevalência de 33,05% (595/1800) de *T. gondii*, 18,44% (332/1800) ao *N. caninum* e 8,94% (161/1800) destes animais reagentes aos dois agentes. No estado do Paraná, em relação ao rebanho ovino, as variáveis “presença de gatos” (OR=1,36), “animais recolhidos diariamente para abrigo” (OR=1,92), “sexo (fêmea)” (OR=1,83), “idade (> 1 ano)” (OR=2,60), “presença de aborto” (OR=1,47), “água proveniente de fontes superficiais” (OR=1,41) e “água fornecida em vasilhames fora das instalações” (OR=1,67), apresentaram associações significativas entre o resultado da sorologia para o *T. gondii*, revelando-se como fatores de risco para ocorrência da toxoplasmose. As variáveis “separa matrizes antes de parir” (OR=1,35), “animais que tem livre acesso às fontes de água” (OR=1,38), “água fornecida em vasilhames fora das instalações” (OR=2,08), “idade (> 1 ano)” (OR=1,80), “sexo (fêmea) (OR=2,63) e “cães que se alimentam de restos placentários de ovinos” (OR=1,70), apresentaram associação significativa à sorologia para *N. caninum*, revelando-se como fatores de risco para a ocorrência da neosporose ovina. O estudo do rebanho caprino revelou associação significativa entre o resultado da sorologia para *T. gondii* e as variáveis “presença de gatos” (OR=2,26), “presença de felídeos selvagens” (OR=1,97), “local de abate para animais na propriedade” (OR=2,35), “gatos se alimentam de restos placentários” (OR=2,53), “idade (> 8 meses) (OR=2,53), “fornece ração concentrada aos animais” (OR=1,84), “água fornecida em vasilhames fora das instalações” (OR=3,16), “animais bebem água direto da fonte”

(OR=2,91), “água proveniente de fonte profunda” (OR=3,61); quanto ao *N. caninum*, ocorreu associação entre as variáveis “fornece ração concentrada aos animais” (OR=4,77) e “morte até o desmame” (OR=9,65), apresentando-se como fatores de risco para a ocorrência da toxoplasmose e neosporose, respectivamente. No rebanho ovino do Rio Grande do Sul as variáveis “tamanho da propriedade (<500ha)” (OR=1,94), “tamanho do rebanho (<100 animais)” (OR=1,44), “sistema de criação (semi-intensivo/intensivo) (OR=1,71), “monta natural sem controle” (OR=1,97) e “pastoreio dos ovinos em outras propriedades” (OR=1,87) apresentaram-se como fator de risco para ocorrência do *T. gondii* e as variáveis “tamanho da propriedade (<500ha)” (OR=1,86), “tamanho do rebanho (<100 animais)” (OR=1,42), “sistema de criação (semi-intensivo/intensivo) (OR=1,46) e “monta natural sem controle” (OR=2,81) apresentaram-se como fatores de risco para ocorrência do *N. caninum*. As taxas denotam importantes prevalências dos agentes distribuídas nos dois estados, o estudo das variáveis associadas a essas parasitoses, permitiu caracterizar deficiências de manejo ambiental e saneamento, manejo nutricional, presença de hospedeiros e tipo de exploração; que irá subsidiar programas sanitários e políticas públicas relacionadas à prevenção de *T. gondii* e de *N. caninum* em rebanhos de pequenos ruminantes no Sul do Brasil.

Palavras-chave: Aborto. Elisa. Fatores de Risco. Oocistos. Rifi.

ROMANELLI, Paulo Roberto. "ASSOCIATED FACTORS AND PREVALENCE OF anti-Toxoplasma gondii AND anti-Neospora caninum ANTIBODIES IN SHEEP AND GOATS OF PARANÁ AND BREEDING RAMS OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL.". 2018. 126 pp. Thesis (Doctor's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in the sheep and goats of the State of Paraná and breeding ram of Rio Grande do Sul and the factors associated with these diseases. Were analyzed 1617 sheep serum samples from 84 farms distributed in 25 municipalities belonging to nine Regional Units of the Paraná State Agricultural Defense Agency (ADAPAR) and 597 goat serum samples from 35 farms distributed in 20 municipalities. The State of Rio Grande do Sul's Department of Agriculture (SEAPA) selected 225 municipalities distributed in seven mesoregions totalizing 1800 serum samples from 705 farms. The sheep sera in the two states were analyzed using the indirect ELISA technique to detect anti-T. gondii antibodies.. For the detection of anti-N. caninum antibodies in ovine sera from the state of Paraná, the indirect ELISA technique (Kit commercial) has been used and from the state of Rio Grande do Sul samples, indirect immunofluorescence reaction (commercial kit) were used. being The analysis of the serum samples from the goats to detect antibodies anti-T. gondii was performed by indirect ELISA and by indirect immunofluorescence (commercial kit) for the detection of antibodies anti-N. caninum. In the State of Paraná, were detected 45.94% (743/1617) of positive animals for T. gondii, 17.62% (285/1617) for N. caninum and 9.9% (161/1617) prevalence of both agents, while the goat herd presented a prevalence of 37,52% (224/597) of T. gondii, 7,37% (44/597) of N. caninum and 3,18% (19/597) of simultaneous frequency of antibodies to the two agents. The rams from Rio Grande do Sul presented a prevalence of 33.05% (595/1800) of T. gondii, 18.44% (332/1800) to N. caninum and 8.94% (161/1800) of simultaneous frequency of antibodies against both agents. In the state of Paraná, in relation to the sheep herd, the variables "presence of cats" (OR = 1.36), "animals collected daily for shelter"), "sex (female)" (OR = 1.83), "age (> 1 year)" (OR = 2.60), "presence of abortion" (OR = 1.47), "water from surface sources "(OR = 1.41) and" water supplied in off-premise containers "(OR = 1.67), showed significant associations between the serology result for T. gondii, and these were risk factors for toxoplasmosis. The variables "separate matrices before calving" (OR = 1.35), "animals that have free access to water sources" (OR = 1.38 (OR = 2.08), "water from deep fountain" (OR = 1.06), "water supplied from off-site containers" (OR = 1.8), "sex (female) (OR = 2, 63) and "dogs that feed on placental remains of sheep" (OR = 1.70), presented a significant association with serology for *Neospora caninum*, revealing as risk factors for the occurrence of ovine neosporosis. The study of the goat herd revealed a significant association between the serology results for T. gondii and the presence of cats (OR = 2.26), presence of wild felids "(OR = 1.97)," specific place to slaughter animals on the property "(OR = 2.35), cats feed on debris (OR = 2.53), age (> 8 months) (OR = 2.53), "provides concentrated feed to animals" (OR = 1.84), "water supplied in off-premise containers" (OR = 3.16), "water from deep water source" (OR = 2.91), and for N. caninum "provides concentrated feed to animals " (OR = 4.77), "water from a deep source" (OR = 16.98) and "death until weaning" (OR = 9.65), presenting as risk factors for the occurrence of toxoplasmosis and neosporosis , respectively. In the sheep herd of Rio Grande do Sul, the variables "stock size (<500ha)" (OR = 1.94), "herd size (<100 animals)

(OR = 1.71), "rearing system (semi-intensive / intensive) (OR = 1.71) (OR = 1.97), "sheep grazing on other properties" (OR = 1.87) presented as a risk factor for the occurrence of *T. gondii* and "size of property (<500 ha) (OR = 1.86), "herd size (<100 animals)" (OR = 1.42), "breeding system (semi-intensive / intensive) (OR = 1.46) and "natural mating without control" (OR = 2.81) presented as risk factors for the occurrence of *Neospora caninum*. The rates indicate important prevalence of the agents distributed in the mesoregions of the two states, the study of the variables associated to these parasitoses, allowed to characterize deficiencies of environmental management and sanitation, nutritional management, presence of hosts and type of exploration; besides subsidizing sanitary programs and public policies regarding the prevention of *T. gondii* and *N. caninum* in southern Brazil sheep and goat flocks.

Key words: Abortion. Elisa. Oocysts. Rifi. Risk factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO A

- Figura 1** – Diagrama de fluxo com total de registros e filtros realizados em cada estágio da pesquisa de revisão sistemática da neosporose ovina e fatores associados..... 25

ARTIGO B

- Figura 1** – Distribuição das propriedades ovinocultoras positivas e negativas para *T. gondii* no estado do Paraná. 42
- Figura 2** – Mapa de densidade de Kernel das propriedades ovinocultoras positivas para *T. gondii* no estado do Paraná 42
- Figura 3** – Distribuição das propriedades ovinocultoras positivas e negativas para *Neospora caninum* no estado do Paraná 43
- Figura 4** – Mapa de densidade de Kernel das propriedades ovinocultoras positivas para *Neospora caninum*. no estado do 43

ARTIGO C

- Figura 1** – Distribuição das propriedades caprinocultoras positivas e negativas para *T. gondii* no estado do Paraná 64
- Figura 2** – Mapa de densidade de Kernel das propriedades caprinocultoras positivas para *T. gondii* no estado do Paraná 64
- Figura 3** – Distribuição das propriedades caprinocultoras positivas e negativas para *Neospora caninum* no estado do Paraná 65
- Figura 4** – Mapa de densidade de Kernel das propriedades caprinocultoras positivas para *Neospora caninum*. no estado do Paraná 65

ARTIGO D

- Figura 1** – Rebanhos ovinos positivos e negativos para *T. gondii* no Rio Grande do Sul..... 83

Figura 2 – Rebanhos ovinos positivos e negativos para <i>Neospora caninum</i> no Rio Grande do Sul.....	83
Figura 3 – Mapa de densidade de Kernel para rebanhos ovinos positivos para <i>T. gondii</i> no Rio Grande do Sul	84
Figura 4 – Mapa de densidade de Kernel para rebanhos ovinos positivos para <i>Neospora caninum</i> no Rio Grande do Sul.....	84

APÊNDICES

APÊNDICE A

Figura - Mapa Mesorregiões do Estado do Paraná	97
---	----

APÊNDICE B

Figura – Mapa Mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul	98
--	----

LISTA DE QUADROS

REVISÃO DE LITERATURA

ARTIGO A

Quadro 1 – Estudos de soroprevalência do <i>Neospora caninum</i> em rebanhos ovinos sem identificação de fatores associados	22
Quadro 2 – Estudos de prevalência da neosporose ovina e fatores associados	26 15

LISTA DE TABELAS

ARTIGO B

- Tabela 1** – Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* (ELISA indireto) e anti-*Neospora caninum* (ELISA indireto) em propriedades ovinocultoras de seis Mesorregiões do Estado do Paraná..... 43
- Tabela 2** – Resultados da análise univariada para os ovinos sororreagentes ao *Toxoplasma gondii* (ELISA indireto) quanto às variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Estado do Paraná, Brasil – 2016..... 47
- Tabela 3** – Resultados da análise univariada dos ovinos sororreagentes ao *Neospora caninum* (ELISA indireto) e as variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Estado do Paraná, Brasil- 2016..... 52

ARTIGO C

- Tabela 1** – Frequência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* (Elisa indireto) e anti- *Neospora caninum* (Elisa indireto – Kit comercial) em propriedades caprinocultoras do Estado do Paraná, Brasil – 2016 63
- Tabela 2** – Resultados da análise univariada para caprinos sororreagentes ao *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (ELISA indireto) e as variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Estado do Paraná, Brasil – 2016 67

ARTIGO D

- Tabela 1** – Frequência de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*Neospora caninum* em soros de ovinos machos reprodutores em propriedades de sete mesorregiões do Rio Grande do Sul, Brasil – 2016..... 82
- Tabela 2** – Resultados dos testes de associação (qui-quadrado e *odds ratio*) para os ovinos sororreagentes ao *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (ELISA indireto) e as variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Rio Grande do Sul, Brasil – 2016..... 89

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1	ARTIGO A – “REVISÃO SISTEMÁTICA DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEOSPOROSE OVINA”	20
4	ARTIGO B – “AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DO <i>Toxoplasma gondii</i> E <i>Neospora caninum</i> EM REBANHOS OVINOS DO ESTADO DO PARANÁ, E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS”	37
5	ARTIGO C – “AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DO <i>Toxoplasma gondii</i> E <i>Neospora caninum</i> EM REBANHOS CAPRINOS DO ESTADO DO PARANÁ E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS	58
6	ARTIGO D – “AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE EM CARNEIROS REPRODUTORES DO RIO GRANDE DO SUL, COMO SINALIZADORES DE PERDAS NO SISTEMA DE PRODUÇÃO”	75
7	CONCLUSÃO	95
	APÊNDICES	96
	APÊNDICE A – Mapa das Mesorregiões do Estado do Paraná	97
	APÊNDICE B – Mapa das Mesorregiões do Estado do Rio Grande do Sul.....	98
	ANEXOS	99
	ANEXO A – Questionário Epidemiológico	100
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética.....	122
	ANEXO A – Bula Kit de Elisa Indireto	123
	ANEXO A – Bula Kit de Imunofluorescência Indireta.....	125

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior país da América do Sul e apresenta extensão continental com área aproximada de 8.514.877 Km² dividida em cinco regiões: Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (IBGE, 2016). O clima no país varia de tropical, com temperaturas entre 24 e 28°C na região Nordeste, à subtropical variando entre 14 e 22°C na região Sul. Apresenta relevos como Planaltos, Planícies e Depressões.

A região Sul do Brasil é constituída pelos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo este o maior dos três com 281.737,947 Km² de extensão territorial ocupando aproximadamente 3,30% do território nacional. Diferentes biomas são distribuídos nas regiões brasileiras e dois deles podem ser encontrados no Rio Grande do Sul; uma faixa da Mata Atlântica de 37% e o Pampa gaúcho, que representa 63% do território estadual.

O país possui condições territoriais e ambientais favoráveis ao desenvolvimento da ovinocaprinocultura, porém os altos índices de mortalidade e a extensa gama de patologias descritas nessas espécies inibem o crescimento da atividade.

Nos estados do Sul do Brasil onde a ovinocaprinocultura apresenta tradição histórica, o conhecimento das diversas regiões e suas particularidades, a caracterização das propriedades, perfil de rebanhos, tipo de exploração da pecuária ovina e caprina, bem como os diversos manejos praticados, pouco têm sido considerados nos estudos de prevalência.

A toxoplasmose, causada pelo *Toxoplasma gondii* é considerada como das mais importantes dentre as principais zoonoses, sua distribuição é cosmopolita, acometendo todo animal homeotérmico já posto à prova. Nas espécies ovina e caprina, têm sido descrita como uma das principais causas primárias de abortamentos (MORENO et al., 2012).

A toxoplasmose humana está intimamente associada à exposição à diferentes estágios de desenvolvimento do *T. gondii*, como na ingestão de carne, vísceras ou derivados, oriundos de diferentes espécies animal, contendo cistos teciduais ou taquizoítas do agente; ou através da ingestão de oocistos esporulados no meio ambiente, contaminando alimentos e água (TENTER, 2009).

A ingestão de carne mal-cozida oriunda de cordeiros infectados por *T. gondii*, é relatada como importante fonte de infecção para humanos (COOK et al., 2000).

Desde a descoberta do *Neospora caninum* por Dubey et al. (1988) e a determinação do cão como seu hospedeiro definitivo (McALLISTER et al., 1998), muitos trabalhos têm sido conduzidos no sentido de esclarecer o comportamento deste agente acometendo os diversos rebanhos de animais de produção.

A neosporose é apontada como grande causadora de problemas reprodutivos e a maior causa de abortamentos em rebanhos bovinos em diversos países (DUBEY & LINDSAY, 1996); nas demais espécies de interesse econômico, os fatores associados à neosporose e seu impacto econômico ainda não estão completamente elucidados.

O primeiro estudo epidemiológico da neosporose ovina no estado do Paraná, foi realizado por Romanelli et al. (2002), onde encontraram uma prevalência de 9,5% porém, neste estudo, os autores não encontraram os fatores associados à infecção. Embora diversos estudos tenham sido conduzidos desde então, poucos encontraram fatores associados à prevalência do *N. caninum* nessa espécie animal.

A identificação desses fatores é fundamental para subsidiar programas de desenvolvimento e fomento da ovinocaprinocultura pelo mundo, assim sendo, uma revisão sistemática de literatura da neosporose ovina e análise desses fatores são importantes ferramentas para se atingir esse objetivo.

Nesse contexto, a toxoplasmose e a neosporose, enfermidades causadas, respectivamente, pelos protozoários *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* representam importantes prejuízos reprodutivos e econômicos nos rebanhos ovinos e caprinos do país; além do importante papel na saúde pública, devido ao fato de ser fonte de infecção do *Toxoplasma gondii* para o homem.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Conhecer a epidemiologia do *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em rebanhos ovinos e caprinos do Estado do Paraná e em carneiros reprodutores do Rio Grande do Sul.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar revisão sistemática da literatura dos fatores de risco da neosporose ovina.

Determinar a prevalência de anticorpos contra o *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em ovinos e caprinos do Estado do Paraná e em carneiros reprodutores do Rio Grande do Sul.

Determinar os fatores associados à ocorrência do *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* por meio da aplicação de questionário epidemiológico e avaliação estatística dos resultados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ARTIGO A

“REVISÃO SISTEMÁTICA DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEOSPOROSE OVINA”

RESUMO

Introdução

A neosporose, causada pelo protozoário *Neospora caninum*, tem sido amplamente relatada e discutida como importante enfermidade associada a problemas reprodutivos em rebanhos de diversas espécies animais. Ainda não há revisão sistemática da neosporose ovina.

Metodologia

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com o estabelecido no relatório de itens para revisões sistemáticas e metanálises (PRISMA). Foram utilizadas na pesquisa quatro bases: Pubmed, Scielo, Web of Science e Scopus.

Resultados

Esta revisão sistemática identificou estudos da neosporose ovina e fatores associados, em diversos continentes, inclusive no Brasil.

Conclusão

Fatores ambientais, climáticos, manejo, idade dos animais e raça apresentaram-se como fatores de risco e proteção para a enfermidade. As variáveis tamanho das propriedades, tamanho de rebanho, idade, presença de cães e tipo de criação apresentaram maior frequência dentre os fatores encontrados, devendo assim, ser parte integrante dos questionários epidemiológicos em estudos futuros.

Palavras chave

Utilizou-se nas buscas as palavras-chave: “*neospora* and sheep”, “*neospore* and sheep”, “*neospora* and lamb”, “*neospore* and lamb”, “*neospora* and ewe” e “*neospore* and ewe”.

INTRODUÇÃO

O primeiro caso de infecção natural de *Neospora caninum* na espécie ovina foi descrito por Dubey et al. (1990) ao avaliarem, por meio da técnica de imunistoquímica e análise ultraestrutural do tecido cerebral, um cordeiro recém-nascido que apresentou sinais neurológicos e foi a óbito com uma semana de vida.

Diversos experimentos foram conduzidos para o conhecimento do comportamento do parasito nesta espécie animal, McAllister et al. (1996) demonstraram que infecções experimentais no início de gestação (65 dias) com $1,7 \times 10^5$ ou $1,7 \times 10^6$ taquizoítos causaram aborto em todos os animais, já em infecções no final de gestação (120 dias) resultaram em animais, clinicamente sadios, sugerindo que o tempo de gestação do feto é importante quando o mesmo é submetido à infecção, indicando uma resposta imune fetal.

Romanelli (2002), realizou o primeiro estudo soropidemiológico da neosporose ovina no mundo e encontraram prevalência de 9,5% nos rebanhos.

Embora diversas pesquisas sobre a epidemiologia do agente tenham sido conduzidas desde então, a maioria dos estudos não descrevem fatores de risco associados à ocorrência do agente na espécie ovina, demonstrando apenas a soroprevalência do agente, tais como os descritos no quadro 1.

Quadro 1 – Estudos de soroprevalência do *Neospora caninum* em rebanhos ovinos sem identificação de fatores de risco associados.

Autor	Região	Positivos/Total	Prevalência %	Técnica
FIGLIUOLO et al., 2004	São Paulo	(55/597)	9,2%	RIFI
ROMANELLI et al., 2007	Paraná	(29/305)	9,5%	RIFI
UENO et al., 2009	Distrito Federal	(90/1028)	8,75%	RIFI
(MUNHÓZ et al., 2010)	Paraná	53/381	13,91%	RIFI
SALABERRY et al., 2010	Minas Gerais	(27/334)	8,1%	RIFI
MORAES et al., 2011	Maranhão	(3/64)	4,69%	RIFI
TEMBUE et al., 2011	Pernambuco	(52/81)	64,2	RIFI
ANDRADE et al., 2012	Minas Gerais	(64/488)	13,1%	RIFI
(HECKER et al., 2013)	Argentina	(21/704)	3%	RIFI
GHAREKHANI et al., 2013	Iran	(8/358)	2,2%	ELISA
(CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ et al., 2014)	México	(18/324)	5,5%	ELISA E NESTED PCR
MOURA et al., 2014	Santa Catarina	(92/1308)	7%	RIFI
GUIMARAES et al., 2015	Tocantins	(25/182)	13,74%	RIFI
GHELLER et al., 2016	Paraná	(3/81)	3,70%	RIFI
FERREIRA et al., 2016	Rio grande do Sul	(49/300)	16,3%	RIFI

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi revisar os fatores associados à ocorrência da neosporose ovina.

METODOLOGIA

Estratégia de busca na literatura

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com o estabelecido no relatório de itens para revisões sistemáticas e metanálises PRISMA (MOHER et al., 2009).

No período de 24 de julho a 30 de julho de 2017 cinco pesquisadores (1, 2, 3, 4 e 5) realizaram pesquisa do tema proposto junto à quatro bases de pesquisa: Pubmed, Scielo, Web of Science e Scopus.

Os parâmetros de busca foram distribuídos aos pesquisadores, utilizando-se o operador booleano “AND” e como palavras-chave de busca os seguintes termos: “*neospora and sheep*” e “*neosporosis and sheep*” (pesquisadores 1 e 2); “*neospora and lamb*” e “*neosporosis and lamb*” (pesquisadores 3 e 4) e “*neospora and ewe*” e “*neosporosis and ewe*” (pesquisador 5).

CrITÉRIOS de inclusão e exclusão

Foram adotados como critérios de inclusão na pesquisa, artigos nos idiomas inglês ou português, relativos a estudo de prevalência e/ou surto, que encontraram fatores de risco para a ocorrência da doença em análise multivariada. Como critério de exclusão à pesquisa, rejeitou-se artigos de avaliação de métodos de diagnóstico, bem como de achados *post mortem*.

Realizadas as consultas às bases, cada pesquisador utilizou o programa Mendeley® para a análise das bibliotecas de arquivos geradas por cada base, excluindo-se as duplicatas, arquivos vazios, exclusão por títulos e resumos. Depois de selecionados, os arquivos enviados pelos cinco pesquisadores foram novamente agrupados em uma única pasta no programa Mendeley® e mais uma vez analisados conforme os critérios já citados.

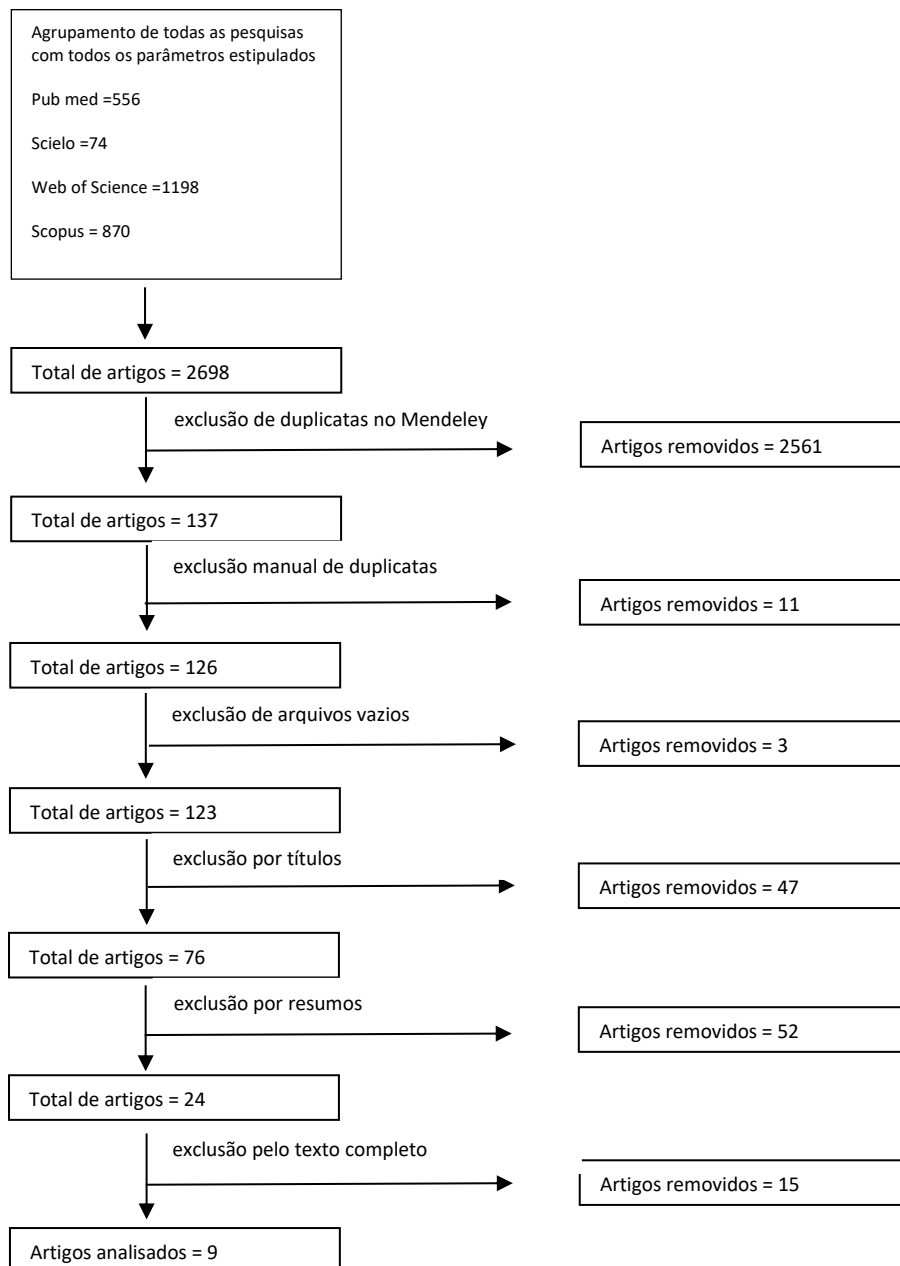
RESULTADOS

A partir do resultado das pesquisas nas bases de dados, foram encontrados 556 artigos da base Pubmed, 74 artigos da Scielo, 1198 artigos da Web of Science e 870 artigos da Scopus.

Os artigos recebidos e agrupados no programa Mendeley®, totalizaram 2698. Foram realizadas análises de duplicatas, pelo programa, e houve a remoção de 2561 artigos, restando 137. Posteriormente, foi realizada uma análise visual dos artigos, onde ainda foram encontradas 11 duplicatas, as quais foram removidas manualmente, resultando em 126 artigos. A presença de arquivos vazios também foi constatada visualmente, resultando na remoção de três deles. Na sequência, os títulos dos artigos foram analisados quanto à presença das palavras chave, permanecendo 76. Após a análise dos títulos, os resumos foram lidos e avaliados quanto à presença dos fatores de inclusão, restando 24. Por meio da leitura dos textos completos, nove artigos que apresentaram fatores de risco para a enfermidade foram selecionados para a revisão sistemática (Figura 1).

Três artigos relataram pesquisas realizadas em território brasileiro e nos demais as pesquisas foram desenvolvidas na Europa (2 artigos), Oriente médio (2 artigos), África (1 artigo) e Ásia (1 artigo). Todas as publicações selecionadas compreenderam o período de 2008 a 2016 (quadro 2).

Figura 1 – Diagrama de fluxo com total de registros e filtros realizados em cada estágio da pesquisa de revisão sistemática da neosporose ovina e fatores associados.



Quadro 2 – Estudos de prevalência da neosporose ovina e fatores associados.

Referência	Local	Amostra (n)	Técnica	Prevalência %	Fatores de Risco Análise Multivariada
Neosporose no Mundo					
Al-Majali et al. (2008)	Sul da Jordânia	320	Kit ELISA comercial	4,3	<p>*Rebanho pequeno (≤ 150 animais) $p=0,001$; OR=1,9 (IC 95% = 1,1-2,9)</p> <p>*Mais que um cão na propriedade $p=0,03$; OR=2,4 (IC 95% = 2,1-6,1)</p> <p>*Pastagem de ovinos e caprinos em áreas comuns $p=0,02$; OR=1,2 (IC 95% = 1,0-3,1)</p>
Abo-Shehada et al. (2010)	Norte da Jordânia	12.093	Kit ELISA comercial	63	*Presença de cães $p=0,02$; OR = 3,6 (IC 95% =1,2-10,2)
Faria et al. (2010)	Alagoas, Brasil	343	RIFI	9,6	<p>*Tamanho da propriedade (≤ 30 ha) $p=0,003$; OR= 7,23 (IC95%= 1,99–26,49)</p> <p>*Fonte de água (poços + município + cursos de água) $p= 0,024$; OR= 4,76 (IC 95%= 1,23–18,47)</p>
Diaz et al. (2014)	Noroeste da Espanha	2400	Kit ELISA comercial	5,5	*Idade (>16 meses) $p=0,008$; OR= 3,7 (IC= 95% =1,4- 9,7)

Rocha et al. (2014)	Sudoeste da Bahia, Brasil	795	RIFI	13,2	<p>*Presença de aprisco p= 0,009; OR=0,51 (IC 95% =0,31-0,85)</p> <p>*Uso de fenação p=0,045; OR=0,57(IC 95%= 0,33-0,98)</p> <p>*Taxa de lotação (um ou mais animais) p=0,003; OR=0,48(IC 95%= 0,30-0,78)</p> <p>*Presença de cães p= 0,010; OR=0,36 (IC 95% =0,17-0,79)</p>
Liu et al. (2015)	China	600	ELISA	10,33	<p>*Presença de cães p= 0,001; OR=3,31(IC= 95% 1,10–6,15)</p> <p>*Má higiene p=0,001; OR=2,236 (IC 95%= 1,327–3, 785)</p>
Gazzonis et al. (2016)	Nordeste da Itália	428	ELISA	19,3	*Rebanho semi-extensivo p=0,0001; OR= 3,48 (IC 95%= 2,12–5,71)
Maganga et al. (2016)	Sul do Gabão	95	ELISA	42,1	*Localidade (Bibora) (OR=3.98; IC 95% 1,06-14,93)
Arraes-Santos et al. (2016)	Semiárido Nordeste, Brasil	Petrolina 179 e PNSC* 153	RIFI	Petrolina 21,8% e PNSC 5,2%	<p>*Idade (6meses a 1 ano) (p=0,014; OR= 3,7 (IC 95%= 1,3–10,4)</p> <p>*Região (Petrolina) (p= 0,001; OR=4,1 (IC 95% =1,8–9,3)</p>

PNSC – Parque Nacional da Serra das Confusões.

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta.

ELISA – Ensaio Imunoenzimático.

DISCUSSÃO

Fatores associados à ocorrência da neosporose ovina

Variáveis associadas à presença de cães

Este estudo apresenta revisão sistemática dos fatores de risco associados à soroprevalência do *N. caninum* na análise multivariada dos dados.

A presença de cães nas propriedades ovinocultoras tem sido descrita como uma das principais variáveis, senão, a mais importante, associada à ocorrência da neosporose ovina. Dubey e Schares, (2011) relataram a presença de cães em propriedades rurais como o maior fator de risco para a ocorrência do *N. caninum* em rebanhos bovinos, mencionaram ainda, que forragens e grãos são estocados em celeiros, onde existe o fácil acesso de cães. Segundo Dijkstra et al, (2002), a manutenção do ciclo biológico do agente, se dá por meio da constante eliminação de oocistos nas fezes caninas, contaminando pastos, silagem ou outras fontes de alimento.

Al-Majali et al, (2008) estudando rebanhos ovinos no Sul da Jordânia, relataram que a presença de mais de um cão na propriedade sugere a hipótese de transmissão horizontal do agente, aumentando em 2,4 vezes o risco da ocorrência do *N. caninum*. No mesmo país, estudando rebanhos da região Norte, Abo-Shehada & Abu-Halaweh, (2010), identificaram que em propriedades onde havia cães presentes aumentou em 3,6 vezes o risco de ocorrência da neosporose. Na China, Liu et al. (2015), relataram que o aumento do risco para ocorrência da *N. caninum* foi de 3,3 vezes em propriedades onde os cães eram presentes. Embora esses estudos tenham sido realizados em países e períodos diferentes, a forte associação da presença de cães à neosporose ovina se dá pelo fato do cão ser o hospedeiro definitivo do agente.

Dessa forma, o risco pode ser evitado e/ou diminuído através da restrição do acesso dos cães às áreas dos animais de produção, assim como a correta destinação de restos placentários e de vísceras, que impede a via de transmissão horizontal do agente, evitando a infecção dos cães (SILVA et al., 2013) e consecutiva eliminação de oocistos no ambiente.

A má higiene de instalações associada à presença de cães, também é um fator a ser considerado, principalmente a má higiene de comedouros e bebedouros, que podem estar contaminados por oocistos do agente, conforme descrito por Cavalcante et

al. (2008) ao pesquisarem os fatores de risco do *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no estado do Ceará. Liu et al. (2015) relataram que o risco de ocorrência da neosporose aumentou em 2,23 vezes quando as propriedades apresentavam higiene precária.

Maganga et al. (2016) estudando rebanhos ovinos no Sul do Gabão, na localidade de Bibora, apontaram animais como quase quatro vezes mais propensos a infecção por *N. caninum*, quando comparados às demais localidades. Tal fato pode ser justificado pela grande presença de cães errantes nessa localidade, associada à má gestão do lixo nas comunidades rurais, gerando lixões que servem como fonte de alimento para esses animais. Ao mesmo tempo que no Brasil, Arraes-Santos et al. (2016) encontraram associação positiva entre propriedades da região do município de Petrolina e a soroprevalência à neosporose ovina, quando comparada à região do Parque Nacional das Confusões. Em relação ao risco apresentado de 4,1 mais chances de ocorrência da neosporose, a prevalência entre diferentes regiões ou mesmo na mesma região pode variar de acordo com fatores como temperatura e umidade diferentes, condições sanitárias, bem como as características dos animais amostrados e a presença do hospedeiro definitivo (UENO et al., 2009). É possível inferir que animais que vivem em áreas preservadas, como no PNSC, onde habita uma pequena população de cães domésticos, estejam menos expostos à neosporose quando comparados a região de Petrolina.

Por outro lado, Rocha et al. (2014) apontaram a presença de cães como fator protetor à ocorrência da neosporose nos rebanhos ovinos. Tal fato é explicado por Barling et al. (2001), ao afirmarem que os cães residentes em uma propriedade acabam por inibir a presença de cães erráticos e canídeos silvestres. Os autores identificaram ainda, o emprego de fenação como suplementação da alimentação dos ovinos e a presença de aprisco na propriedade, como fatores protetores para a enfermidade. Mesmo que tenham justificado as variáveis pelo fato de ambas diminuírem o pastoreio dos ovinos durante o dia, em pastagens que podem estar contaminadas por oocistos do agente, possíveis vieses devem ser considerados. Tal constatação sugere confundimento, uma vez que contraria o descrito por diversos autores em relação à presença de aprisco, que favorece a aglomeração dos ovinos e quando associado a presença de cães, aumenta o risco de infecção. A suplementação alimentar também tem sido descrita como um fator de risco para a enfermidade, uma vez que feno e ração são armazenados em depósitos, onde na maioria das propriedades o acesso dos cães é comum, permanecendo e defecando, contaminando o ambiente e os alimentos com oocistos do agente. Outra variável descrita, taxa de lotação (lotação de pastagem) também sugere um viés, uma vez que os autores

apresentam risco para ocorrência da enfermidade quando há menos que um animal por hectare de pasto.

Idade

Na região noroeste da Espanha Diaz et al. (2014) avaliando 2400 animais, constataram prevalência de 5,5% e, na análise multivariada a variável “Idade (>16 meses)” apresentou 3,72 vezes mais chance de ocorrência do *N. caninum* nos rebanhos estudados. Com o avanço da idade e quando deixam de ser animais jovens, as fêmeas ingressam na vida reprodutiva, podendo contribuir assim para a transmissão vertical da doença. Outro fato relevante é que com o aumento da idade, os animais aumentam também probabilidade de contato com as diversas vias de transmissão do agente no ambiente, instalando-se dessa forma a transmissão horizontal da doença.

Arraes-Santos et al. (2016) encontraram prevalência de 21,8% (39/179) em propriedades do município de Petrolina e 5,2% (8/153) no PNSC; a análise estatística multivariada revelou como fatores de risco as variáveis “Idade (6 meses a 1 ano)”. Os resultados obtidos apontam 3,7 a mais de probabilidade de ocorrência do agente acometendo animais jovens, em relação aos animais adultos. Embora na transmissão horizontal da doença o período de exposição dos animais (idade) às fontes de infecção seja muito importante, na transmissão vertical, esse fator não é tão relevante, sendo assim, a maior prevalência em animais jovens pode ser facilmente aceita.

Sistema de criação

Na região nordeste da Itália, Gazzonis et al. (2016) avaliando 428 animais encontraram prevalência de 19,3%; na análise multivariada a variável “Rebanho semiextensivo” apresentou 3,48 maior probabilidade de ocorrência de neosporose ovina. Em conformidade ao descrito por Dubey & Schares, (2011), no sistema de produção semiextensivo os animais são suplementados com forragem e grãos, os quais são estocados em celeiros, onde existe o fácil acesso de cães, prática que oferece grande risco de infecção.

O sistema semiextensivo propicia maior aglomeração dos animais e geralmente as instalações localizam-se no peridomicílio, onde os cães também estão presentes, aumentando assim a chance de contaminação ambiental.

Faria et al, (2010) observaram que propriedades pequenas (≤ 30 ha) apresentaram 7,2 mais chances de risco de ocorrência da neosporose. Al-Majali et al. (2008) apontaram a variável tamanho de rebanho (pequeno ≤ 150 animais) aumentando o risco em 1,9 vezes de ocorrência do *N. caninum*. Embora a neosporose não seja uma enfermidade infectocontagiosa, a maior densidade populacional nos rebanhos de ovinos aumenta a possibilidade de contato dos animais com a fonte de infecção e as diversas vias de transmissão do *N. caninum* no ambiente. Outro fato a ser considerado, é que se observa em grandes propriedades, geralmente mais tecnificadas, a tendência a menor prevalência do *N. caninum*, explicada também por melhores condições higiênico-sanitárias e adoção de boas práticas de produção, além da menor densidade animal.

Fonte de Água

Faria et al, (2010) descreveram aumento do risco para a ocorrência da neosporose em 4,76 vezes quando há água é oriunda de fontes mistas (poços + abastecimento público + cursos naturais). A avaliação conjunta das diferentes fontes de água não permite a identificação de qual fonte está realmente contaminada por oocistos, sugerindo dessa forma um viés de publicação. Uma vez que na análise univariada os autores não encontraram associação positiva para água oriunda de poços isoladamente, pode-se concluir maior probabilidade da água originária de cursos naturais estar contaminada. Tzanidakis et al. (2012) estudando fatores de risco associados ao *T. Gondii* em rebanhos caprinos e ovinos na Grécia, afirmaram que embora o estudo tenha revelado a água de abastecimento público como fator de risco associado à prevalência do agente, esse pode ser um fator de confundimento.

CONCLUSÃO

Embora 24 artigos tenham descrito a prevalência do *Neospora caninum* nos rebanhos estudados, somente nove relataram fatores associados à ocorrência do agente. A avaliação dos estudos componentes desta revisão permitiu a identificação da dispersão da neosporose ovina nos continentes, por meio das prevalências demonstradas.

No presente estudo, a presença dos cães nas propriedades foi relatada como o principal fator de risco associado à ocorrência da neosporose ovina. Outras variáveis como condições de higiene nas propriedades, densidade animal, diferenças de temperatura e umidade entre regiões foram associadas diretamente à presença de cães.

As variáveis: idade, tamanho das propriedades, tamanho de rebanho, sistema de criação, presença e número de cães foram os mais frequentes dentre os fatores encontrados e devem ser levados em consideração no planejamento das ações de controle da neosporose ovina.

A força de associação entre as variáveis observadas deve ser medida por meio da realização de metanálise.

Os trabalhos selecionados nesta revisão bibliográfica não apresentaram os questionários epidemiológicos em material suplementar, dificultando dessa forma, a comparação dos diferentes instrumentos de coleta de dados aplicados.

REFERÊNCIAS

ABO-SHEHADA, M.; ABU-HALAWEH, M. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 93, p. 25-32, 2010.

AL-MAJALI, A.M.; JAWASREH, K.I., TALAFHA, H.A.; TALAFHA, A.Q. Neosporosis in Sheep and Different Breeds of Goats from Southern Jordan: Prevalence and Risk Factors Analysis. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 3, n. 2, p. 47–52, 2008.

ANDRADE, G. S., BRUHNA, F.R.P, ROCHA, C.M.B.M., GUIMARÃES, A.S., GOUVEIA, A.M.G.; GUIMARÃES, A. M.. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in sheep in the state Minas Gerais, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 1–2, p. 168–171, 2012.

ARRAES-SANTOS, A. I., ARAÚJO, A.C., GUIMARÃES, M.F., SANTOS, J.R., PENA, H.F.J., GENNARI, S.M., AZEVEDO, S.S., LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 5, p. 14–18, 2016.

BARLING K.S., MCNEILL, J.W., PASCHAL, J.C., MCCOLLUM, F.T., CRAIG, T.M., ADAMS, L.G.; THOMPSON, J.A. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, p. 53-61, 2001.

CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ, A. CRUZ-VÁZQUEZ, C. MEDINA-ESPARZA, L. *Neospora caninum*: Seroprevalence and DNA detection in blood of sheep from Aguascalientes, Mexico. **Small Ruminant Research**, v. 119, n. 1–3, p. 182–186, 2014.

CAVALCANTE, A. C. R., CARNEIRO, M., GOUVEIA, A. M. G., PINHEIRO, R. R.; VITOR, R. W. A. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. (1), p. 36–41, 2008.

DIAZ, J. M., FERNÁNDEZ, G. PRIETO, A., VALVERDE, S., LAGO, N., DÍAZ, P., PANADERO, R., LÓPEZ, C., MORRONGO, P., DÍEZ-BAÑOS, P. Epidemiology of reproductive pathogens in semi-intensive lamb-producing flocks in North-West Spain: A comparative serological study. **Veterinary Journal**, v. 200, n. 2, p. 335–338, 2014.

DIJKSTRA, T. H., BARKEMA, H. W. BJORKMAN, C.; WOUDA, W. A high rate of seroconversion for *Neospora caninum* in a dairy herd without an obvious increased incidence of abortions. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 203–211, 2002.

DUBEY, J.P., HARTLEY, W.J. LINDSAY, D.S.; TOPPER, M. J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **Journal of Parasitology**, v. 76, p. 127-130, 1990.

DUBEY, J.P., SCHARES, G. Neosporosis in animals – the last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 90–108, 2011.

FARIA, CAVALCANTI, E. B. E. F. T. S. F. MEDEIROS, E. S. PINHEIRO-JÚNIOR, J. W. AZEVEDO, S. S. ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A. Risk Factors Associated with *Neospora caninum* Seropositivity in Sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 1, p. 197–199, 2010.

FERREIRA, M. S. T.; VOGEL, F. S. F. ; SANGIONI, L. A. ; CEZAR, A S.; MENEZES, F. R. *Neospora spp.* and *Toxoplasma gondii* infection in sheep flocks from Rio Grande do Sul, Brazil. **Semina-Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 1397–1406, 2016.

FIGLIUOLO, L. P. C., KASAI, N., RAGOZO, A.M.A., PAULA, V.S.O., DIAS, R.A., SOUZA, S.L.P., GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 161–166, 2004.

GAZZONIS, A. L., GARCIAB, G. A., ZANZANIA, S. A., MORAB, L. M. O., INVERNIZZIC, A., MANFREDIA, M. T. *Neospora caninum* infection in sheep and goats from north-eastern Italy and associated risk factors. **Small Ruminant Research**, v. 140, p. 7–12, 2016.

GHAREKHANI, J.; TAVOOSIDANA, G. R.; ZANDIEH, M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in sheep from western Iran. **Veterinary World**, v. 6, n. 10, p. 709–710, 2013.

GHELLER, J. M., CARNIEL, R., CARRASCO, A. O. T.; SEKI, M. C.. Occurrence and risk factors for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sheep of the Guarapuava region, Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 2, p. 177–181, 2016.

GUIMARAES, A., RAIMUNDO, J.M., MORAES, L.M.B., SILVA, A.T., SANTOS, H. A., PIRES, M.S., MACHADO, R. Z.; BALDANI, C.D. Occurrences of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from four districts of Tocantins state, Brazilian Legal Amazon Region. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 110–114, 2015.

HECKER, Y. P., MOORE, D.P., MANAZZA, J.A., UNZAGA, J.M., SPÄTH, ERNESTO J. A., PARDINI, L.L., VENTURINI, M.C., ROBERI, J.L.; CAMPERO, C.M. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 7, p. 1645–1647, 2013.

LIU, Z.K.B C; LI, J.Y.; PAN, H. Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 118, n. 4, p. 488–492, 2015.

MAGANGA, G.D.B, ABESOLOA, A.L., OKOUYIB, C.S.M., LABOUBAA, I., BEYEMEB, A.M.M., MAVOUNGOUB, J.F., AGOSSOUC, E., COSSICC, B.; AKUE, J.P. Seroprevalence and risk factors of two abortive diseases, toxoplasmosis and neosporosis, in small ruminants of the Mongo County, southern Gabon. **Small Ruminant Research**, v. 144, p. 56–61, 2016.

McALLISTER, M. M.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; McGUIRE, A. M; TRESS, A. J.; STOBART, R. H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996.

MOHER, D., LIBERATI, A., TETZLAFF, J., ALTMAN, D. G., ALTMAN, D., ANTES, G.; TUGWELL, P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. **Plos Medicine**, v. 6, n. 7, 2009.

MORAES, L. M. . M. B., RAIMUNDO, J.M., GUIMARÃES, A., SANTOS, H.A., MACEDO JUNIOR, G.L., MASSARD, C.L., MACHADO, R.Z. ; BALDANI, C.D. Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 20, n. 4, p. 312–317, 2011.

MOURA, A. B. M., GÜTHS, M.F., FARIAS, J.A., SOUZA, A.P., SARTOR, A.A. ; QUADROS, R.M. *Neospora caninum* seroprevalence and risk factors for ewes from Santa Catarina Plateau, Brazil. **Semina Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 2591–2600, 2014.

MUNHÓZ, K. F. , DE LUCA NETO, M. M., DE ALMEIDA SANTOS, S. M., GARCIA, J. L., DA SILVA GUIMARÃES JR., J., VIDOTTO, O.; YAMAMURA, M. H. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Parana, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1031–1040, 2010.

ROCHA, D. D. S., GUIMARÃES, L.A., BEZERRA, R.A., MENDONÇA, C.E.A.; DÓREA, T.G., MUNHOZ, A.D.; ALBUQUERQUE, G.R. Seroprevalence and factors associated with *Neospora caninum* infection in sheep from southeastern Bahia , Brazil. v. 36, n. 4, p. 1–5, 2014.

ROMANELLI, P.R. Avaliação soropidemiológica de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em ovinos do município de Guarapuava-Paraná. 2002, p. 53. Tese (Mestrado em Sanidade Animal)-Faculdade de Medicina Veterinária, **Universidade Estadual de Londrina**, Paraná. 2002.

ROMANELLI, P. R., FREIRE, R. L., VIDOTTO, O., MARANA, E. R., OGAWA, L., DE PAULA, V. S. O., GARCIA, J.L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 2, p. 202–207, 2007.

SILVA, A. P. S. P., SANTOS, D. V., KOHEK, I., MACHADO, G., HEIN, H. E., VIDOR, A. C. M.; CORBELLINI, L. G. Ovinocultura do Rio Grande do Sul: Descrição do sistema produtivo e dos principais aspectos sanitários e reprodutivos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1453–1458, 2013.

SALABERRY, S. R. S., OKUDA, L.H., NASSAR, A.F.C., CASTRO, J.R.; LIMA-RIBEIRO, A. M.C. Faculdade et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlândia county, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 148–151, 2010.

TEMBUE, A. A.S.M., RAMOS, R.A.N., SOUSA, T.R., ALBUQUERQUE, A.R., COSTA, A.J., MEUNIER, I.M.J., FAUSTINO, M.A.G.; ALVES, L.C. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 246–248, 2011.

TZANIDAKIS, N., MAKSIMOV, P., CONRATHS, F. J., KIOSSIS, E., BROZOS, C., SOTIRAKI, S., & SCHARES, G. *Toxoplasma gondii* in sheep and goats: Seroprevalence and potential risk factors under dairy husbandry practices. **Veterinary Parasitology**, v. 190, n. (3–4), p. 340–348, 2012.

UENO, T. E. H, GONÇALVES, V. S. P., HEINEMANN, M. B., DILLI, T. L. B., AKIMOTO, B. M., SOUZA, S. L. P., GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health Production**, v. 41, p. 547–552, 2009.

4 ARTIGO B

“FATORES DE RISCO ASSOCIADOS E PREVALÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM REBANHOS OVINOS DO SUL DO BRASIL”.

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a prevalência da toxoplasmose e da neosporose, assim como os fatores a elas associados. Assim, foram avaliadas 1617 ovinos provenientes de 84 propriedades de 25 municípios do estado do Paraná. A análise sorológica foi realizada pelo ELISA indireto para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anticorpos anti-*Neospora caninum*. Os resultados encontrados foram: 45,94% (743/1617) de soropositividade ao *T. gondii*, 17,62% (285/1617) de soropositividade ao *N. caninum* e destes 9,9% (161/1617) foram reagentes para os dois agentes. As variáveis associadas à maior chance de ocorrência do *T. gondii* foram: “presença de gatos” (OR=1,36;), “animais recolhidos diariamente para abrigo” (OR=1,92), “sexo fêmea” (OR=1,83), “idade > 1 ano” (OR=2,60), “presença de aborto na propriedade” (OR=1,47), “água proveniente de fontes superficiais” (OR=1,41) e “água fornecida em vasilhames fora das instalações” (OR=1,67). Os fatores de risco para ocorrência do *N. caninum* nos rebanhos foram: “separar matrizes antes de parir” (OR=1,35), “animais com livre acesso às fontes de água” (OR=1,38), “água fornecida em vasilhames fora das instalações” (OR=2,08), “idade > 1 ano” (OR=1,80), “sexo fêmea (OR=2,63) e “cães que se alimentam de restos placentários de ovinos” (OR=1,70). As taxas denotam importantes prevalências desses agentes distribuídos no estado do Paraná, o estudo das variáveis associadas a essas parasitoses, permitiu caracterizar as deficiências de manejo ambiental e saneamento, presença de reservatórios e tipo de exploração; além de subsidiar programas sanitários e políticas públicas quanto à prevenção do *T. gondii* e do *N. caninum* nos rebanhos ovinos do Paraná.

Palavras-chave: Elisa; Neosporose, Rifi, Toxoplasmose, Zoonose.

**" ASSOCIATED RISK FACTORS AND PREVALENCE OF *Toxoplasma gondii*
AND *Neospora caninum* IN SHEEP FLOCKS OF SOUTHERN BRAZIL "**

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the prevalence of toxoplasmosis and neosporosis, as well as the associated factors. Thus, 1617 sheep serum samples were evaluated in 84 properties of 25 municipalities, distributed in nine Regional Units located in six of the ten mesoregions of the state of Paraná. Serological analysis was performed by the indirect ELISA for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and anti-*Neospora caninum* antibodies (commercial kit). The results were: 45.94% (743/1617) of seropositivity to *T. gondii*, 17.62% (285/1617) of seropositivity to *Neospora caninum* and 9.9% (161/1617) of antibody frequency to the two agents in the herd studied. The variables that presented the greatest chance of occurrence of *T. gondii* in the herds were: "presence of cats" (OR = 1.36), "animals collected daily for shelter" (OR = 1.92), "sex (female)" (OR = 1.83), "age (OR = 1.60), "water from (OR = 1.41) and "water supplied in off-premise containers" (OR = 1.67). The risk factors for the occurrence of *Neospora caninum* in the herds were: "separate matrices before calving" (OR = 1.35), "animals that have free access to water sources (OR = 1.38), "water supplied in off-premise containers" (OR = 2.08), (OR = 1.70), "age (> 1 year)" (OR = 1.80) (OR = 2.63) and "dogs feeding on placental remains of sheep" (OR = 1.70). The rates indicate important prevalences of the agents distributed in the mesoregions of the state of Paraná, the study of the variables associated to these parasitoses allowed to characterize the deficiencies of environmental management and sanitation, presence of reservoirs and type of exploration; besides subsidizing sanitary programs destined to the professionals involved in the productive chain regarding the prevention of *T. gondii* and *Neospora caninum*.

Keywords: Elisa. Neosporosis. Rifi. Toxoplasmosis. Zoonosis.

Introdução

O rebanho ovino nacional foi estimado em 18.410.551 milhões de cabeças (IBGE, 2015). Segundo cadastro de rebanhos da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB/PR) o Paraná ocupa a sétima colocação nacional com aproximadamente 614.749 mil cabeças, representando 3,3% do rebanho brasileiro (SEAB/PR, 2016). A EMATER (Instituto Paranaense de assistência técnica e produção rural), através do Programa de apoio à estruturação das cadeias produtivas de ovinos e caprinos (PAECPOC) desde 2003 vêm distribuindo matrizes destinadas à agricultura familiar em todo o estado do Paraná; contudo não existem medidas sanitárias visando o controle da toxoplasmose e neosporose nesses animais.

Toxoplasma gondii figura como um dos principais agentes responsáveis por prejuízos reprodutivos nos rebanhos, sendo registrada prevalência em ovinos variando entre 7% e 51,8% no Estado do Paraná no início dos anos 2000 (FIALHO; TEIXEIRA; ARAUJO, 2009), existindo grande carência de dados recentes.

Em determinadas regiões do estado do Paraná, devido à colonização por imigrantes italianos e principalmente gaúchos, existem comunidades onde tradicionalmente o consumo da carne ovina é maior quando comparadas às demais. No estado destacam-se regiões como a Centro Oriental, onde a ovinocultura é mais intensa, existindo abate e exportação da carne ovina, principalmente aos países árabes, onde praticamente não existe o consumo da carne suína. Cook et al., (2000) estudando as fontes de infecção do *T. gondii* em gestantes, apontaram o consumo de carne crua ou mal-cozida como o fator de risco com maior associação à ocorrência da infecção (30 à 63% das infecções), e dentre as espécies animais, salienta a participação da carne de cordeiro; os autores mencionaram ainda que o contato com gatos não foi associado à infecção, enquanto que o contato direto com solo apresentou risco de apenas 17%.

A presença de *Neospora caninum* em rebanhos ovinos, do Paraná foi descrita desde 2007, quando Romanelli et al. (2007), verificaram através de sorodiagnóstico, prevalência de 9,5% em rebanhos da região Centro Sul do Paraná.

Tendo em vista a pequena quantidade de estudos dos dois agentes no estado do Paraná na última década, o presente trabalho contribuirá na atualização do banco de dados da Secretaria de Estado de Agricultura e do Abastecimento (SEAB), subsidiando ações futuras de controle dos agentes ora estudados.

O presente estudo objetivou avaliar o perfil da ovinocultura no Estado do Paraná, a prevalência do *T. gondii* e *N. caninum* e os fatores de risco a ela associados.

Material e métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais – Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, registrado sob o nº010 /2014. Estas atividades fazem parte do projeto Embrapa (Caracterização zoossanitária da caprinocultura e ovinocultura no Brasil: epidemiologia, fatores de risco e impacto econômico das enfermidades) registrado sob número 02.12.01.032.00.00.

O estudo abrangeu as seis mesorregiões do estado do Paraná que concentram os maiores rebanhos ovinos, foram elencadas 84 propriedades rurais distribuídas em 25 municípios, totalizando 1617 animais, machos e fêmeas de todas as idades.

Para o cálculo de tamanho de amostra (n) utilizou-se o programa OPEN EPI (versão 3). Em uma população infinita, com base no estudo de Romanelli et al. (2007) estimou-se para *T. gondii* a prevalência de 50,0%, erro de 2,5%, chegando-se ao número de 1534 animais e para *N. caninum* prevalência de 9,5% e erro de 1,5%, chegando-se ao número de 1466; adotou-se nível de confiança de 95% e EDFF de 1,5.

A amostragem foi realizada por conglomerado, ou seja, dentro de cada propriedade os animais foram estratificados segundo suas categorias, sendo coletado aleatoriamente, aproximadamente: 60% de matrizes, 35% de jovens (seis a doze meses) e todos os reprodutores, totalizando 20 ovinos, por propriedade visitada.

A detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi realizada pela técnica de ELISA indireto conforme descrito por Garcia et al. (2007). A concentração padronizada de antígeno de *T. gondii* foi de 2,5µg/mL, os soros foram titulados à 1:100 e o conjugado (Sigma Aldrich, USA®) diluído 1:4.000. Todas as amostras foram testadas em duplicata. As condições ótimas concernentes à concentração de antígeno, titulação de soro e diluição do conjugado foram estabelecidas pela maior razão entre a média de absorbâncias das amostras positivas e a média das amostras negativas. O ponto de corte

de cada placa foi obtido segundo Garcia et al. (2006), utilizando-se o valor médio das densidades ópticas dos controles negativos adicionado de três desvios padrão.

Para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* utilizou-se Kits comerciais de Elisa indireto (ELISAI - IMUNODOT®, JABOTICABAL, BRASIL). O índice de corte (I.C.) foi calculado por meio da média da densidade óptica dos controles negativos, multiplicada pelo fator 2,5; sendo consideradas positivas amostras que apresentaram coloração amarela intensa e densidade óptica igual ou maior que o I.C, conforme descrito pelo fabricante.

O programa EpiInfo 7.1.5.2 (DEAN et al., 1994) foi utilizado para tabular as variáveis que compuseram o questionário epidemiológico junto aos resultados sorológicos encontrados. As variáveis foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) corrigido de Yates e o teste exato de Fisher. O risco foi estimado a partir dos valores levantados através da razão de chances (“Odds Ratio”, OR) e o respectivo intervalo de confiança de 95%.

As propriedades foram georreferenciadas por meio do Sistema de Posicionamento Global (GPS). A construção do *shapefile* foi realizada por meio do software ArcGIS® (ESRI, 2011). A distribuição dos pontos, análise de agrupamento e densidade de Kernel foram construídos por meio do software Qgis.

Resultados e discussão

Em todas as mesorregiões estudadas foram identificadas propriedades positivas para os dois agentes, sendo que em 92,9% (78/84) das propriedades constatou-se a presença de ovinos sororreagentes para *T. gondii* (Figuras 1 e 2), 76,2% (64/84) para *N. caninum* e 71,4% (60/84) de reagentes aos dois agentes (Figuras 3 e 4), demonstrando que esses dois agentes encontram condições favoráveis para a sua disseminação por todo o Estado (Tabela 1).

Figura 1 – Distribuição das propriedades ovinocultoras positivas e negativas para *T. gondii* no estado do Paraná.

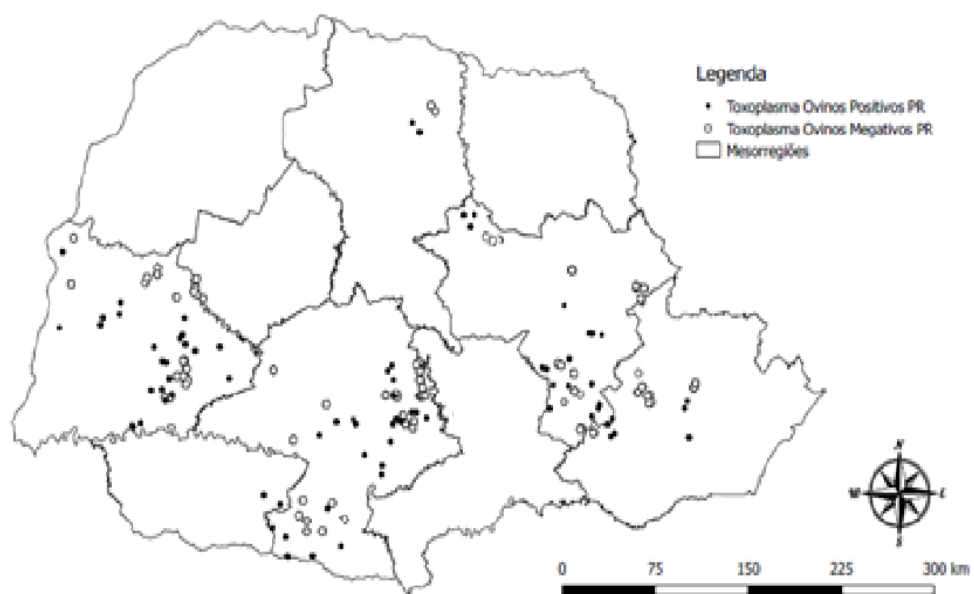


Figura 2 – Mapa de densidade de Kernel das propriedades ovinocultoras positivas para *T. gondii* no estado do Paraná.

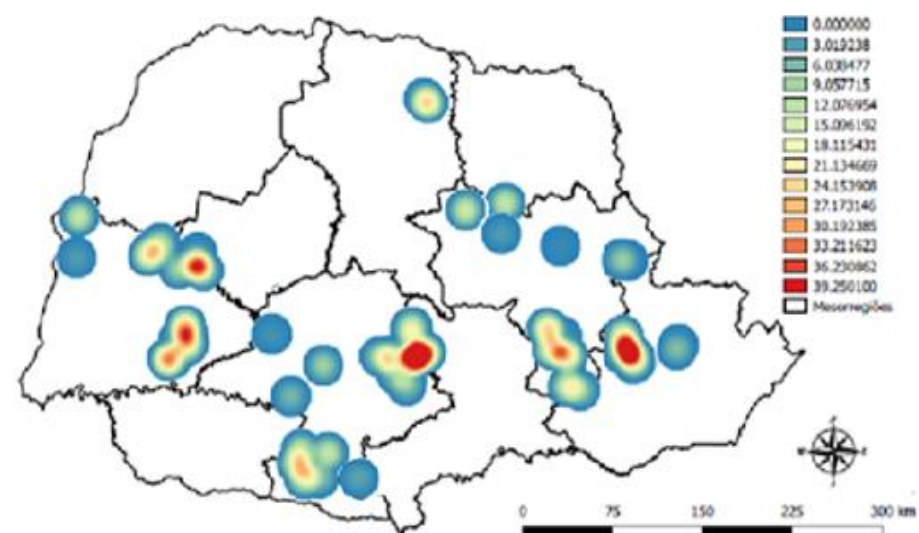


Figura 3 – Distribuição das propriedades ovinocultoras positivas e negativas para *Neospora caninum* no estado do Paraná.

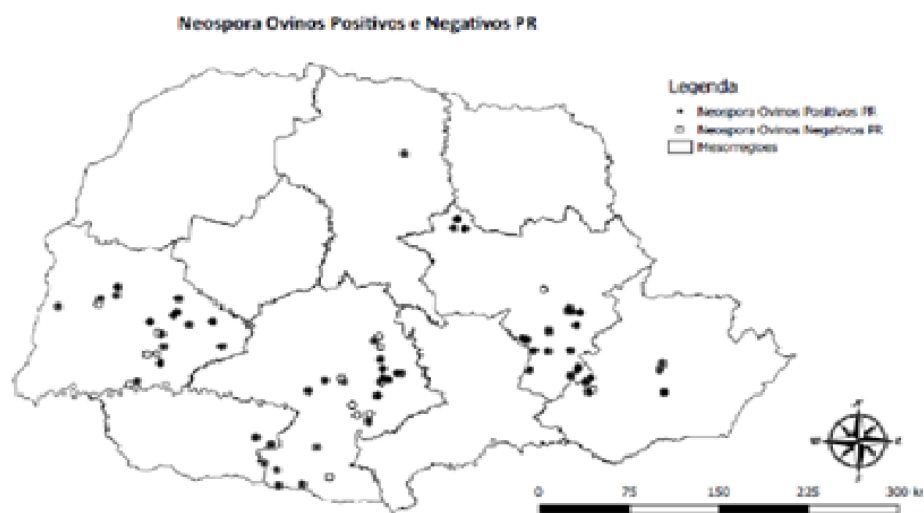


Figura 4 – Mapa de densidade de Kernel das propriedades ovinocultoras positivas para *Neospora caninum* no estado do Paraná.

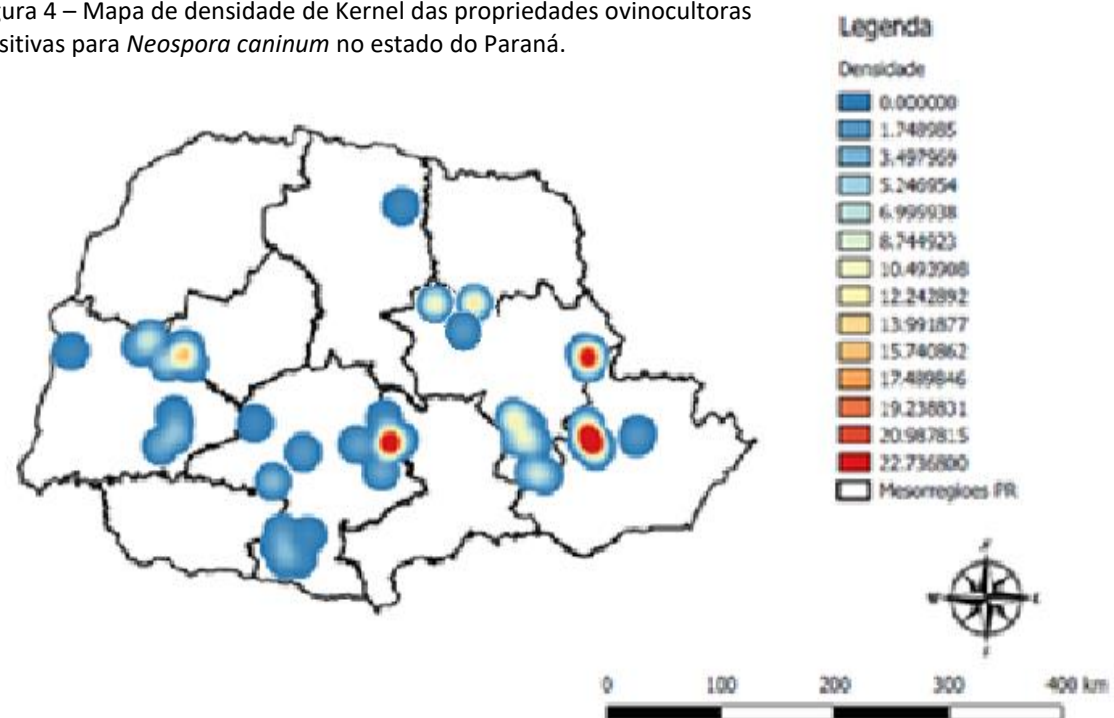


Tabela 1- Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* (ELISA indireto) e anti-*Neospora caninum* (ELISA indireto) em propriedades ovinocultoras de seis Mesorregiões do Estado do Paraná, Brasil – 2016.

Mesorregião	<i>T. gondii</i> Propriedades Positivas/Total (%)	<i>T. gondii</i> Animais Positivos/Tota l (%)	<i>N. caninum</i> Propriedades Positivas/Total (%)	<i>N. caninum</i> Animais Positivos/Total (%)
Oeste	23/24 (95,8)	197/389 (50,6)	15/24 (62,5)	49/389 (12,6)
Sudoeste	8/8 (100)	82/172 (47,6)	7/8 (87,5)	13/172 (7,5)
Centro Sul	17/20 (85,0)	179/440 (40,7)	12/20 (60,0)	47/440 (10,7)
Centro Oriental	21/23 (91,3)	215/456 (47,1)	22/23 (95,6)	149/456 (32,7)
Norte Central	4/4 (100)	44/61 (72,1)	4/4 (100)	14/61 (22,9)
Metropolitana	5/5 (100)	26/99 (26,2)	4/5 (80,0)	13/99 (13,1)
Total	78/84 (92,9)	743/1617 (45,9)	64/84 (76,2)	285/1617 (17,6)

No presente estudo, os resultados da sorologia dos animais revelaram frequência de anticorpos IgG anti - *T. gondii* de 45,9% (743/1617; IC 95% 40,85-45,89). Estudos sobre a prevalência da toxoplasmose em ovinos no Paraná foram realizados por outros autores, na região Norte do Paraná encontraram prevalência variando de 47,8 a 54,6% (Ogawa et al., 2003; Garcia et al., 1999) e na região Centro Oeste de 40,7 a 51,5% (Romanelli et al., 2007; Gheller et al., 2016), no entanto, esses trabalhos foram localizados e o tamanho da amostra menor. Dessa forma, o erro adotado de 2,5% para o cálculo do tamanho da amostra, do presente estudo, demonstra a alta significância dos resultados.

Com relação ao *N. caninum* a prevalência encontrada neste estudo foi de 17,6% (285/1617; IC 95% 15,86-19,85). Em estudos anteriores, Munhóz et al. (2010) analisando rebanhos de propriedades do norte do estado do Paraná constataram frequência de anticorpos de 13,9% (53/381) e Gheller et al. (2016) e Romanelli et al. (2007) em rebanhos da região Centro Sul observaram prevalência de 3,7% (3/81) e 9,5%

(29/305), respectivamente. Assim como para o *T. gondii*, no estudo do *N. caninum* adotou-se o erro de apenas 1,5%. No entanto, esses trabalhos foram realizados em regiões específicas do estado e com tamanho de amostra menor que o presente trabalho, onde o erro previsto foi de apenas 1,5% para uma prevalência esperada de 9,5%.

Apesar da menor prevalência do *N. caninum* quando comparada ao *T. gondii*, este estudo demonstrou que 9,9% (161/1617) dos animais apresentaram coinfeção, sendo que 71,4% (60/84) das propriedades estudadas apresentaram-se positivas a ambos os parasitas. Dessa forma medidas de controle devem ser dirigidas aos dois agentes na maioria das propriedades ovinocultoras do estado do Paraná.

A avaliação das características de manejo, produção, reprodução e ambientais com os resultados da presença de anticorpos IgG anti- *T. gondii* são apresentados na Tabela 2. As variáveis presença de gatos, água fornecida em vasilhames a céu aberto, fornecimento de água de fontes superficiais, ocorrência de abortamento na propriedade, idade > 1 ano, sexo fêmea, recolhimento dos animais em aprisco e grau de escolaridade do proprietário (< 8 anos de estudo), apresentaram associação significativa com maior chance de infecção pelo parasita. Gatos em propriedades rurais têm livre acesso às pastagens, instalações zootécnicas e depósitos de alimentos e fontes de água, onde podem eliminar oocistos do *T. gondii* nas fezes; a presença de gatos em propriedades é o principal fator de contaminação ambiental e, conseqüentemente, de seres humanos e animais (WEIGEL et al., 1999). Cavalcante et al. (2008) menciona a infecção por toxoplasma associada à baixa frequência de higienização dos bebedouros de caprinos no Ceará. Gebremedhin et al. (2013) em estudo realizado em rebanhos caprinos na Etiópia, aponta associação entre a ingestão de água de rio e o aumento em 3 vezes do risco de infecção pelo *T. gondii*. A água proveniente de fontes superficiais como rios e lagoas, geralmente é ofertada aos animais sem tratamento algum, aumentando o risco de ingestão de oocistos do *T. gondii*; conforme observado por Villari et al. (2009) em estudo realizado com suínos, demonstrando que existe correlação positiva entre o fornecimento de água não tratada aos animais e a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. Segundo relato de Pinheiro Junior et al. (2009), o risco de infecção por *T. gondii* pode ser aumentado em até três vezes quando os ovinos ingerem água de fontes naturais. Em propriedades com alto índice de problemas reprodutivos o isolamento de oocistos de reservatórios de água deve ser realizado e quando constatada a contaminação, um estudo de viabilidade econômica de sistemas de tratamento de água deve ser conduzido e/ou a busca de fontes alternativas de abastecimento para os animais, como por exemplo, poços artesianos.

O *T. gondii* é conhecido causador de reabsorção fetal, abortamentos e mortes neonatais de cordeiros (BUXTON et al., 2007). A presença de aborto em rebanhos ovinos está fortemente associada ao *T. gondii*, sendo, segundo Moreno et al. (2012) apontado como o principal parasita responsável por abortamento em ovelhas e cabras.

No presente estudo observou-se associação positiva entre o relato de abortamento na propriedade e a prevalência do agente, sendo que quando os abortamentos foram presentes, constatou-se um aumento no risco de infecção pelo *T. gondii* de 1,47 vezes. Oliveira et al. (2016) estudando a infecção por *T. gondii* durante o período gestacional de ovelhas em rebanhos gaúchos, observaram redução de 1,87% na produção ovina, ocasionada pelo agente.

Tabela 2 - Resultados da análise univariada para ovinos sororreagentes ao *Toxoplasma gondii* (ELISA indireto) quanto às variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Estado do Paraná, Brasil - 2016.

<i>Toxoplasma gondii</i>			
Variáveis	Sororreagentes/Total (%)	P	OR (IC 95%)
<i>Manejo reprodutivo</i>			
Reprodução assistida			
Inseminação artificial, transferência de embriões	30/180 (16,66)	0,0001	0,22 (0,14-0,33)
Monta natural sem controle	494/1038 (47,59)		
<i>Manejo Alimentar</i>			
Instalação adequada para estocar alimentos suplementares dos ovinos			
Sim	498/1176 (42,35)	0,0212	0,76 (0,61-0,95)
Não	218/446 (48,88)		
<i>Produção</i>			
Sistema de Produção			
Confinamento, semi-confinamento	299/808 (37,00)	0,0001	0,61 (0,50-0,75)
Extensivo	367/750 (48,93)		
<i>Água</i>			
Água fornecida em Vasilhames fora das instalações			
Sim	486/1031 (47,14)	0,0128	1,67 (1,12-2,48)
Não	42/121 (34,71)		
Água proveniente de fontes superficiais Rio, cisterna, cacimba, açude, lagoa			
Sim	784/1779 (44,06)	0,0001	1,41 (1,22-1,62)
Não	559/1561 (35,81)		
<i>Problemas reprodutivos</i>			
Aborto			
Sim	506/1115 (45,38)	0,0017	1,47 (1,15-1,87)
Não	132/234 (36,07)		
<i>Idade</i>			
Adulto acima de 1 ano			
Sim	316/587 (53,83)	0,0001	2,60 (2,01-3,35)
Não	143/462 (30,95)		

*Sexo***Fêmeas**

Sim	416/912 (45,61)	0,0017	1,83 (1,24-2,69)
Não	43/137 (31,39)		

*Diversos***Escolaridade dos proprietários**

* Analfabetos	38/60 (63,3)	1	-
Até oito anos de estudo	97/326 (29,75)	0,0001	0,24 (0,13-0,43)
Acima de oito anos de estudo	185/469 (39,44)	0,0001	0,37 (0,21-0,65)

Mão de Obra capacitada

Sim	264/684 (38,60)	0,0070	0,75 (0,61-0,92)
Não	415/912 (53,61)		

Animais são recolhidos diariamente para abrigo

Sim	669/1480 (45,20)	0,0001	1,92 (1,37-2,67)
Não	55/183 (30,05)		

Presença de Gatos

Sim	481/1038 (46,34)	0,0044	1,36 (1,10-1,68)
Não	211/545 (38,72)		

* Categoria de Referência

Com relação ao *N. caninum*, as variáveis: cães que se alimentam de restos placentários de ovinos; separação de matrizes para parição; água fornecida em vasilhames fora das instalações; idade (> 12 meses), sexo fêmea, demonstraram associação de risco para a presença de anticorpos anti- *Neospora caninum* (Tabela 3). Embora o cão seja hospedeiro definitivo do *N. caninum*, a variável “presença de cães na propriedade” não apresentou associação significativa, no entanto, foi observado a presença desses animais em 71,4% das propriedades (60/84). No Brasil, existe uma prática cultural em alimentar os cães pastores com vísceras de ovinos abatidos ou restos placentários, os quais podem conter cistos do parasito e infectar os cães, que por sua vez, acabam por eliminar oocistos nas fezes, contaminando o ambiente. Dubey et al. (2007) alertaram para a implantação de medidas preventivas no combate à neosporose como, a restrição do acesso de cães às áreas dos animais de produção e a correta destinação de restos placentários e na realidade da ovinocultura brasileira, os proprietários devem ser alertados para o risco de oferecer vísceras aos cães não só para neosporose, mas também para outras infecções, principalmente por cestódeos, como a hidatidose (SILVA et al., 2013).

Quanto à variável separação das matrizes para parição em piquetes maternidade, esta prática favorece a infecção devido às instalações, geralmente, estarem localizadas no peridomicílio para o acompanhamento dos partos e neonatos seja facilitado, propiciando o contato com os cães da propriedade.

Quanto ao livre acesso às fontes naturais de água e o fornecimento de água aos animais em vasilhames fora das instalações, a possibilidade de contaminação ocorre também devido ao acesso dos cães a essas áreas, semelhante ao descrito para os gatos em relação ao *T. gondii*. Gondim et al. (2005), descreveram que cães podem eliminar oocistos de *N. caninum* mais de uma vez, contaminando alimentos e água. Cavalcante et al. (2008) salienta a impossibilidade de higienização de instalações utilizadas para captação e armazenamento de grandes volumes de água, tornando-se assim, vias de transmissão aos animais.

Em relação à idade e sexo dos animais, houve associação significativa para ambos os agentes. Animais mais velhos apresentaram maior chance de infecção devido ao maior tempo de exposição aos agentes no meio ambiente, conforme já relatado por Díaz et al. (2014); Anderlini et al. (2011); Pinheiro Jr et al. (2009); Jittapalpong et al. (2005). Por outro lado Arraes-Santos et al. (2016) apontaram 3,7 a mais de probabilidade de ocorrência do *N. caninum* acometendo animais jovens, em relação aos

animais adultos. Embora na transmissão horizontal da doença o período de exposição dos animais (idade) às fontes de infecção seja muito importante, na transmissão vertical, esse fator não é tão relevante, sendo assim, a maior prevalência em animais jovens pode ser facilmente aceita.

Quanto ao sexo, o fato das fêmeas serem mantidas por mais tempo no rebanho, quando comparadas aos machos que são abatidos mais precocemente, também justifica a maior exposição desses animais, além disso, Uzêda et al. (2004), sugerem maior suscetibilidade das fêmeas devido à diminuição da imunidade durante a gestação e lactação. A primo infecção por *N. caninum* em ovelhas e cabras pode ocorrer de forma fatal para o feto, entretanto, nas próximas gestações, a infecção fetal pode ser relativamente incomum, fato atribuído a uma melhor imunidade materna adquirida nessas espécies. (BUXTON; MCALLISTER; DUBEY, 2002).

A associação significativa do grau de escolaridade dos proprietários com a presença de anticorpos anti - *T. gondii*, demonstra a importância da educação na prevenção de doenças do rebanho. Essa mesma associação pode ser observada quando avaliada a capacitação da mão de obra que apresentou associação significativa aos dois agentes estudados, demonstrando ser um fator protetor. A importância da mão de obra capacitada é discutida por (VIANA; SILVEIRA, 2009) ao estudarem o perfil da ovinocultura na metade Sul do Rio Grande do Sul; segundo os autores existe um acompanhamento por técnicos especializados, entretanto, a mão de obra permanente nas propriedades não é exclusiva para atividade ovina, dessa forma a orientação técnica constante, aos funcionários, repercute na adoção de boas práticas de produção, levando ao abandono paulatino de vícios laborais adquiridos.

Os sistemas de produção mais tecnificados, confinamento e semi-confinamento, quando comparados ao sistema extensivo, apresentaram-se como fatores protetores para ocorrência do *T. gondii* e *N. caninum*. Os dados observados são corroborados por Pinheiro Jr et al., (2009) ao constatarem que propriedades ovinocultoras onde sistema de produção era extensivo, apresentaram 2,3 vezes mais chances de ocorrência do *T. gondii*, quando comparadas aquelas onde o sistema era intensivo; entretanto, Gazzonis et al. (2016) observaram que em propriedades que adotaram o sistema semiextensivo de produção apresentaram 3,48 maior probabilidade de ocorrência de neosporose ovina. Em conformidade ao descrito por Dubey & Schares, (2011), no sistema de produção semiextensivo os animais são suplementados com forragem e grãos,

os quais são estocados em celeiros, onde existe o fácil acesso de cães, prática que oferece grande risco de infecção.

A reprodução assistida, na qual emprega-se técnicas reprodutivas como a inseminação artificial, apresentou-se na análise univariada como fator protetor para a ocorrência do *T. gondii*. Pereira et al. (2012) estudando a prevalência do *T. gondii* em rebanhos caprinos, verificaram que o risco para infecção aumentou em 6,09 quando utilizado o sistema de monta natural. Embora trabalhos de infecção experimental apontem para provável transmissão sexual do *T. gondii* através de sêmen contaminado (LOPES et al., 2013), reprodutores na fase aguda da enfermidade não realizam monta. Geralmente observa-se que propriedades onde existe o emprego de técnicas reprodutivas, refletem a adoção de boas práticas e manejos na produção, indicando maior cuidado sanitário além de melhor tecnificação.

Tabela 3 - Resultados da análise univariada dos ovinos sororreagentes ao *Neospora caninum* (ELISA indireto) e as variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Estado do Paraná, Brasil - 2016.

Variáveis	<i>Neospora caninum</i>		
	Positivos/Total (%)	P	OR (IC 95%)
<i>Manejo reprodutivo</i>			
Separa matrizes antes de parir			
Sim	142/746 (19,03)	0,0333	1,35 (1,03-1,77)
Não	111/750 (14,80)		
<i>Produção</i>			
Sistema de Produção			
Confinamento, semi-confinamento	158/744 (21,23)	0,0001	0,05 (0,04-0,07)
Extensivo	590/709 (83,21)		
<i>Água</i>			
Animais tem acesso livre as fontes de água			
Sim	167 /847 (19,72)	0,0147	1,38 (1,06-1,79)
Não	113/750 (15,07)		
Água fornecida em Vasilhames fora das instalações			
Sim	186/988 (18,83)	0,0286	2,08 (1,06-4,09)
Não	10/100 (10,00)		
<i>Idade</i>			
Adulto acima de 1 ano			
Sim	140/527 (26,57)	0,0002	1,80 (1,32-2,51)
Não	69/417 (16,55)		
<i>Sexo</i>			
Fêmeas			
Sim	195/813 (23,99)	0,0006	2,63 (1,48-4,69)
Não	14/131 (10,69)		
<i>Diversos</i>			
Mão de Obra capacitada			
Sim	94/641 (14,66)	0,0115	0,69 (0,52-0,91)
Não	177/891 (19,87)		
Cães se alimentam de restos placentários de ovinos			
Sim	100/427 (23,42)	0,0002	1,70 (1,28-2,25)
Não	166/1089 (15,24)		

3. Conclusões

A pesquisa realizada, por meio da aplicação do questionário sócio epidemiológico, permitiu o conhecimento da disseminação do *T. gondii* e do *N. caninum* pelo estado do Paraná, com maior prevalência da toxoplasmose. O estudo das variáveis associadas a essas parasitoses permitiu caracterizar as deficiências de manejo ambiental e saneamento, presença de reservatórios e tipo de exploração; além de servir de subsídio para programas sanitários e como embasamento para futuras políticas públicas relacionadas à prevenção do *T. gondii* e do *Neospora caninum*. Além disso, a diminuição da prevalência da toxoplasmose em ovinos refletirá na saúde pública, uma vez que esses animais são importantes fontes de infecção para o homem.

REFERÊNCIAS

- ANDERLINI, G. A.; MOTA, R. A.; FARIA, E. B.; CAVALCANTI, E. F.; TORRES, S. F.; VALENÇA, R. M. B.; PINHEIRO, JR. J. W.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L. Occurrence and risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* in goats in the State of Alagoas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 157-162, 2011.
- ARRAES-SANTOS, A. I., ARAÚJO, A.C., GUIMARÃES, M.F., SANTOS, J.R., PENA, H.F.J., GENNARI, S.M., AZEVEDO, S.S., LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 5, p. 14–18, 2016.
- BUXTON, D.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S.E.; RODGER, S.; BARTLEY, P.; INNES, E. A. *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: New aspects of an old story. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 25–28, 2007.
- BUXTON, D.; MCALLISTER, M.; DUBEY, J. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in parasitology**, 2002.
- CAVALCANTE, A. C. R., CARNEIRO, M., GOUVEIA, A. M. G., PINHEIRO, R. R.; VITOR, R. W. A. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. (1), p. 36–41, 2008.
- COOK, A. J.C. GILBERT, R. E., BUFFOLANO, W., ZUFFEREY, J., PETERSEN, E., JENUM, P. A., FOULON, W., SEMPRINI, A. E.; DUNN, D. T. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. **British Medical Journal**, v. 321, n. 7254, p. 142–147, 2000.
- DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. Epi Info, Version 6: a word processing, data bases, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, Georgia: **Center for Diseases Control and Prevention**, 1994.
- DIAZ, J. M., FERNÁNDEZ, G. PRIETO, A., VALVERDE, S., LAGO, N., DÍAZ, P., PANADERO, R., LÓPEZ, C., MORRONDO, P., DÍEZ-BAÑOS, P. Epidemiology of reproductive pathogens in semi-intensive lamb-producing flocks in North-West Spain: A comparative serological study. **Veterinary Journal**, v. 200, n. 2, p. 335–338, 2014.
- DUBEY, J. P., SCHARES, G., & ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323–367. 2007.

DUBEY, J.P., SCHARES, G. Neosporosis in animals – the last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 90–108, 2011.

ESRI. ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: **Environmental Systems Research Institute**. 2011.

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

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná – Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, p. 91-97, 1999.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GENNARI, S. M.; MACHADO, R. Z.; LUZ PEREIRA, A. B.; SINHORINI, I. L. *Toxoplasma gondii*: comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. **Experimental Parasitology**, v. 113, p. 100–105, 2006.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; BIAZZONO, L.; FREIRE, R. L.; JUNIOR, J. D. S. G.; CRYSSAFIDIS, A. L.; BUGNI, F. M.; CUNHA, I. A. L.; HAMADA, H. H.; DIAS, R. C. F. Protective activity against oocyst shedding in cats vaccinated with crude rhoptry proteins of the *Toxoplasma gondii* by the intranasal route. **Veterinary parasitology**, v. 145, n. 3, p. 197-206, 2007.

GAZZONIS, A. L., GARCIAB, G. A., ZANZANIA, S. A., MORAB, L. M. O., INVERNIZZIC, A., MANFREDIA, M. T. *Neospora caninum* infection in sheep and goats from north-eastern Italy and associated risk factors. **Small Ruminant Research**, v. 140, p. 7–12, 2016.

GEBREMEDHIN, E. Z., AGONAFIR, A., TESSEMA, T. S., TILAHUN, G., MEDHIN, G., VITALE, M., & DI MARCO, V. Some risk factors for reproductive failures and contribution of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats of Central Ethiopia: A cross-sectional study. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n. 3, p. 894–900, 2013.

GHELLER, J. M., CARNIEL, R., CARRASCO, A. O. T.; SEKI, M. C.. Occurrence and risk factors for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sheep of the Guarapuava region, Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 2, p. 177–181, 2016.

IBGE. Instituto de Geografia E Estatística - Ibge. **Estatísticas do registro civil 2014**, v. 41, p. 1–81, 2015. Disponível em:<http://sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.aspz>. Acesso em 03/06/15.

GONDIM, L. F. P., MCALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 33–39, 2005.

JITTAPALAPONG, S., SANGVARANOND, A., PINYOPANUWAT, N., CHIMNOI, W., KHACHAERAM, W., KOIZUMI, S.; MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 17–22, 2005.

LOPES, W. D. Z., RODRIGUEZ, J., SOUZA, SANTOS, T. R., SANTOS, R. S., ROSANESE, W. M., LOPES, W. R. Z., SAKAMOTO, C. A.; COSTA, A. J. Sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1–2, p. 47–56, 2013.

MORENO, B., COLLANTES-FERNÁNDEZ, E., VILLA, A.; NAVARRO, A., REGIDOR-CERRILLO, J.; ORTEGA-MORA, L. M. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 312–318, 2012.

MUNHÓZ, K. F., DE LUCA NETO, M. M., DE ALMEIDA SANTOS, S. M., GARCIA, J. L., DA SILVA GUIMARÃES JR., J., VIDOTTO, O.; YAMAMURA, M. H. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Parana, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1031–1040, 2010.

OGAWA L., NAVARRO I., FREIRE R.L., OLIVEIRA R.C.; VIDOTTO O. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da região de Londrina no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 4, n. 1, p. 57-62, 2003.

OLIVEIRA, F. C., DE OLIVEIRA, P. A., DA CUNHA FILHO, N. A., GUIDOTTI AGUIAR, C. L., PAPPEN, F. G., RUAS, J. L.; DA ROSA FARIAS, N. A. The incidence and productive significance of ovine toxoplasmosis in Southern Brazil. **Ciência Rural**, v.46, n. 9, p. 1618–1621. 2016.

PEREIRA, M. DE F., PEIXOTO, R. DE M., LANGONI, H., GRECA JUNIOR, H., AZEVEDO, S. S. DE, PORTO, W. J. N.; MOTA, R. A. Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 140–146. 2012.

PINHEIRO JR, J. W., APARECIDO MOTA, R., ALICE DA FONSECA OLIVEIRA, A., BENTO FARIA, E., FERNANDO PITA GONDIM, L., VIEIRA DA SILVA, A.; AIRES ANDERLINI, G. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. **Parasitology Research**, v. 105, p. 709-715, 2009.

ROMANELLI, P. R., FREIRE, R. L., VIDOTTO, O., MARANA, E. R., OGAWA, L., DE PAULA, V. S. O., GARCIA, J.L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 2, p. 202–207, 2007.

SEAB/PR; SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL – DERAL. 2016. http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Tab_prod_corte_.pdf. Acesso em 15/02/16.

SILVA, A. P. S. P., SANTOS, D. V., KOHEK, I., MACHADO, G., HEIN, H. E., VIDOR, A. C. M.; CORBELLINI, L. G. Ovinocultura do Rio Grande do Sul: Descrição do sistema produtivo e dos principais aspectos sanitários e reprodutivos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1453–1458, 2013.

UZÊDA R.S., FERNANDEZ S.Y., JESUS E.E.V., PINHEIRO A.M., AYRES M.C.C., SPINOLA S., BARBOSA JUNIOR H.V.; ALMEIDA M.A.O. Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 5, n. 401, p. 1-8, 2004.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. Cadeia produtiva da ovinocultura no Rio Grande do Sul: Um estudo descritivo. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 2, p. 9–20. 2009.

VILLARI, S., G. VESCO, E. PETERSEN, A. CRISPO; W. BUFFOLANO. RISK FACTORS FOR TOXOPLASMOSIS IN PIGS BRED IN SICILY, SOUTHERN ITALY. **VETERINARY PARASITOLOGY**, v. 161, p. 1–8, 2009.

WEIGEL, R. M., DUBEY, J. P., DYER, D.; SIEGEL, A. M. Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, v. 60, n. 5, p. 793–798. 1999.

5 ARTIGO C

“AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS E DA PREVALÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM REBANHOS CAPRINOS DO SUL DO BRASIL.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o perfil da caprinocultura, estimar as perdas produtivas decorrentes de manejos deficitários sinalizados pela determinação das prevalências da toxoplasmose e da neosporose, assim como os fatores a elas associados. Para tal, foram colhidas 597 amostras de caprinos em 35 propriedades de 20 municípios. A análise sorológica foi realizada pelo teste de ELISA indireto para detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e anticorpos IgG anti-*Neospora caninum*. Os resultados encontrados foram: prevalência de 37,52% (224/597) para *T. gondii* e 7,37% (44/597) para *N. caninum*, sendo que 3,18% (19/597) foram reagentes aos dois agentes. Observou-se como fatores de risco para *T. gondii* as variáveis: “presença de gatos” (OR=2,26), “presença de felídeos selvagens” (OR=1,97), “local de abate para animais na propriedade” (OR=2,35), “gatos que se alimentam de restos placentários” (OR=2,53), “idade (> 8 meses) (OR=2,53), “fornecer ração concentrada aos animais” (OR=1,84), “água fornecida em vasilhames fora das instalações” (OR=3,16), “animais que bebem água direto da fonte” (OR=2,91); e em relação ao *N. caninum* as variáveis “fornece ração concentrada aos animais” (OR=4,77) e “morte até o desmame” (OR=9,65) apresentaram-se como fatores de risco. As taxas denotam importantes prevalências dos agentes distribuídos no estado, o estudo das variáveis associadas à essas parasitoses, permitiu caracterizar deficiências de manejo ambiental e saneamento, nutrição, presença de hospedeiro definitivo e tipo de exploração. Esses resultados irão subsidiar programas sanitários na cadeia produtiva quanto à prevenção do *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* nas criações de caprinos no Paraná.

Palavras-chave: Toxoplasmose; Neosporose; Elisa indireto; oocisto; zoonose.

**"EVALUATION OF ASSOCIATED RISK FACTORS AND PREVALENCE OF
Toxoplasma gondii AND *Neospora caninum* IN CAPRINE FLOCKS OF
SOUTHERN BRAZIL".**

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the profile of goat breeding, to estimate the productive losses resulting from deficient managements signaled by the determination of toxoplasmosis and neosporosis prevalence, as well as its associated risk factors. For this, 597 goat samples were collected from 35 farms in 20 municipalities, distributed in nine Regional Units located in five of the ten mesoregions of the state of Paraná. Serological analysis was performed by the indirect ELISA for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and anti-*Neospora caninum* antibodies (commercial kit). The results were: prevalence of 37.52% (224/597) for *T. gondii* and 7.37% (44/597) for *N. caninum* and 3.18% (19/597) of antibody frequency for the two agents. The risk factors for *T. gondii* were: "presence of cats" (OR = 2.26), "presence of wild felids" (OR = 1, 97), "specific place to slaughter animals on the property" (OR = 2.35), "cats feed on debris" (OR = 2.53), "age (> 8 months)" (OR = 2.53), "provides concentrated feed to animals" (OR = 1.84), "water supplied in off-premise containers" (OR = 3.16), "water from deep water source" (OR = 2,91); and for *N. caninum* "provides concentrated feed to animals" (OR = 4.77), "water from a deep source" (OR = 16.98) and "death until weaning" (OR = 9.65) were presented as risk factors. The rates indicate important prevalence of the agents distributed in the mesoregions of the State of Paraná, the study of the variables associated to these parasitoses allowed to characterize deficiencies of environmental management and sanitation, nutritional management, presence of hosts and type of exploration; besides subsidizing sanitary programs destined to the professionals involved in the productive chain regarding the prevention of *T. gondii* and *Neospora caninum* in goat flocks.

Key words: Toxoplasmosis; Neosporosis; Indirect Elisa; oocisto; zoonosis.

Introdução

O rebanho caprino nacional foi estimado em 9.614.722 milhões de cabeças (IBGE, 2015). Segundo cadastro de rebanhos da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB/PR) o Paraná detém 1,6% do rebanho nacional de caprinos, posicionando-se na oitava colocação no ranking com aproximadamente 151.115 mil cabeças (SEAB/PR, 2016).

Dentre as enfermidades que acometem os caprinos está a toxoplasmose, causada pelo *Toxoplasma gondii* que figura como um dos principais agentes responsáveis por prejuízos reprodutivos. A prevalência no Brasil é bastante variável, sendo encontradas diversas taxas de prevalência, 14,4% em São Paulo (MAINARDI et al., 2000), 17,1% no Rio grande do Norte (LIMA et al., 2008), no Piauí 21,2% (SOUSA et al., 2008), no Paraná 39,4% (GARCIA et al., 2012). Além dos prejuízos diretos causados pelo *T. gondii*, como abortamentos e natimortalidade, animais positivos são fontes de infecção para o homem, por meio da ingestão de carne contendo cistos.

Outro parasita causador de problemas reprodutivos é o *Neospora caninum*, descrito em 2004 por Figliuolo et al. (2004), que descreveram a prevalência em rebanhos caprinos de 6,4% no estado de São Paulo, desde então, diversas pesquisas foram conduzidas no território nacional Faria et al. (2007) encontraram prevalência de 3,3% na Paraíba, Lima et al. (2008) descreveram a prevalência de 1,05% no Rio Grande do Norte, Tembue et al. (2011) observaram prevalência de 64,2% em Pernambuco e Arraes-Santos et al. (2016) constataram prevalência de 2,04% também em Pernambuco.

O presente estudo objetivou avaliar o perfil da caprinocultura no Estado do Paraná, as prevalências do *T. gondii* e *N. caninum* e os fatores à elas associados, bem como estimar os impactos econômicos dessas infecções decorrentes de manejos deficitários na cadeia produtiva.

Material e métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais – Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, registrado sob o nº010 /2014. Estas atividades fazem parte do projeto Embrapa (Caracterização zoossanitária da caprinocultura e ovinocultura no Brasil: epidemiologia, fatores de risco e impacto econômico das enfermidades) registrado sob número 02.12.01.032.00.00.

O estudo do rebanho caprino contemplou 25 municípios de cinco das dez mesorregiões do estado do Paraná, onde foram avaliados 597 animais de 35 propriedades.

Para o cálculo de tamanho de amostra (n) utilizou-se como referência uma população infinita e baseado no estudo de Fortes et al. (2018) onde se estimou para *T. gondii* a prevalência de 33,3%, erro de 3% chegando-se ao número de 512 animais e com base no estudo de Figliuolo et al. (2004) estimou-se para *N. caninum* prevalência de 6,4% e erro de 2,5% chegando-se ao número de 552 animas; adotou-se nível de confiança de 95% e EDFF de 1,5.

A amostragem foi realizada por conglomerado, ou seja, dentro de cada propriedade, os animais foram estratificados segundo suas categorias e sorteados, sendo coletado aproximadamente: 60% de matrizes, 35% de jovens (seis a doze meses) e todos os reprodutores, totalizando 20 caprinos por propriedade visitada.

A detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi realizada pela técnica de ELISA indireto conforme descrito por Garcia et al. (2007). A concentração padronizada de antígeno de *T. gondii* foi de 2,5µg/mL, os soros foram titulados à razão de 1:100 e o conjugado (Sigma Aldrich®, USA) diluído 1:4.000. Todas as amostras foram testadas em duplicata. As condições ótimas concernentes à concentração de antígeno, titulação de soro e diluição do conjugado foram estabelecidas pela maior razão entre a média de absorbâncias das amostras positivas e a média das amostras negativas. O ponto de corte de cada placa foi obtido segundo Garcia et al. (2006), utilizando-se a média dos soros negativos mais três desvios padrão.

Para detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* utilizou-se Kits comerciais de Elisa indireto (Imunodot®, Jaboticabal, Brasil). O índice de corte (I.C.) foi calculado através da média da densidade óptica dos controles negativos, multiplicada pelo

fator 2,5; sendo consideradas positivas amostras que apresentaram coloração amarela intensa e densidade óptica igual ou maior que o I.C, conforme descrito pelo fabricante.

O programa EpiInfo 7.1.5.2 (DEAN et al., 1994) foi utilizado para tabular as variáveis que compuseram o questionário epidemiológico junto aos resultados sorológicos encontrados. As variáveis foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) corrigido de Yates e o teste exato de Fisher. O risco foi estimado a partir dos valores levantados através da razão de chances (“Odds Ratio”, OR) e o respectivo intervalo de confiança de 95%.

As propriedades foram mapeadas por meio do Sistema de Posicionamento Global (GPS). A construção do *shapefile* foi realizada por meio do software ArcGIS® (ESRI, 2011). A distribuição dos pontos, análise de agrupamento e densidade de Kernel foram construídos por meio do software Qgis.

Resultados e discussão

Conforme observado na tabela 1, a distribuição da prevalência dos agentes pelas propriedades apontou caprinos sororreagentes ao *T. gondii* em 91,4% (32/35) das propriedades e em relação ao *N. caninum* a prevalência foi de 54,3% (19/35), demonstrando importante distribuição dos agentes no Paraná.

Fortes et al. (2018) descreveram 30% (317/1058) de prevalência do *T. gondii* no estado do Paraná, por meio da reação de Imunofluorescência indireta (RIFI). Em nosso estudo a prevalência foi de 37,5% (224/597; IC 95% 198-245) de anticorpos IgG anti-*T. gondii*, utilizando-se o ELISAI (figuras 1 e 2).

Neste estudo observou-se frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* de 7,3% (44/597; IC 95% 30-55) (figuras 8 e 9) e 3,2% (19/597; IC 95% 10-27) de frequência de anticorpos para os dois agentes.

Até o presente momento não foram realizados estudos de prevalência do *N. caninum* acometendo a espécie caprina no estado do Paraná.

Tabela 1- Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (ELISA indireto) e anti-*Neospora caninum* (ELISA indireto - kit comercial) em propriedades caprinocultoras do Estado do Paraná, Brasil – 2016.

Mesorregião	<i>T. gondii</i> Propriedades Positivas/Total (%)	<i>T. gondii</i> Animais Positivos/Total (%)	<i>N. caninum</i> Propriedades Positivas/Total (%)	<i>N. caninum</i> Animais Positivos/Tot al (%)
Oeste	15/17 (88,24)	95/227 (41,85)	10/17 (58,82)	19/227 (8,37)
Sudoeste	9/9 (100)	76/188 (40,42)	4/9 (33,33)	8/188 (4,26)
Centro Sul	5/5 (100)	34/100 (34,00)	3/5 (60,00)	13/100 (13,00)
Norte Central	1/2 (50,00)	6/42 (14,29)	2/2 (100)	4/42 (9,52)
Metropolitana	2/2 (100)	13/40 (32,50)	0/2 (00,00)	0/40 (00)
Total	32/35 (91,4)	224/597 (37,5)	19/35 (54,3)	44/597 (7,3)

Figura 1 – Distribuição das propriedades caprinocultoras positivas e negativas para *T. gondii* no estado do Paraná.

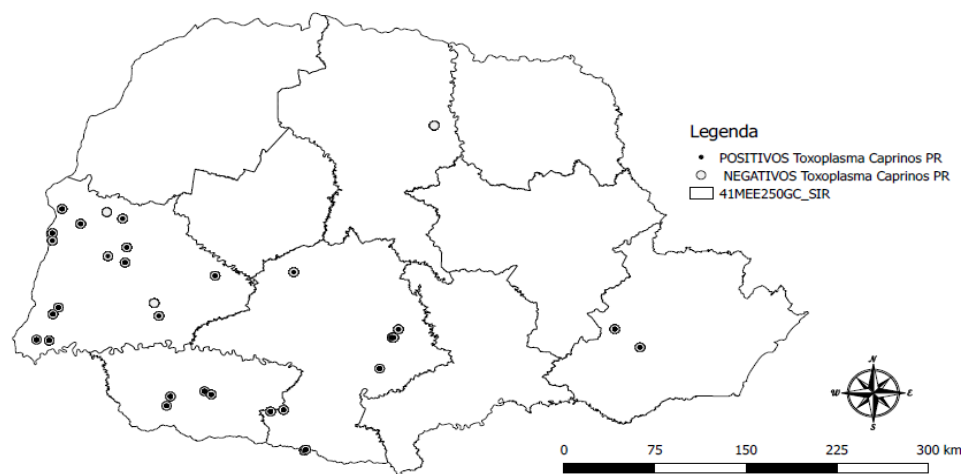


Figura 2 – Mapa de densidade de Kernel das propriedades caprinocultoras positivas para *T. gondii* no estado do Paraná.

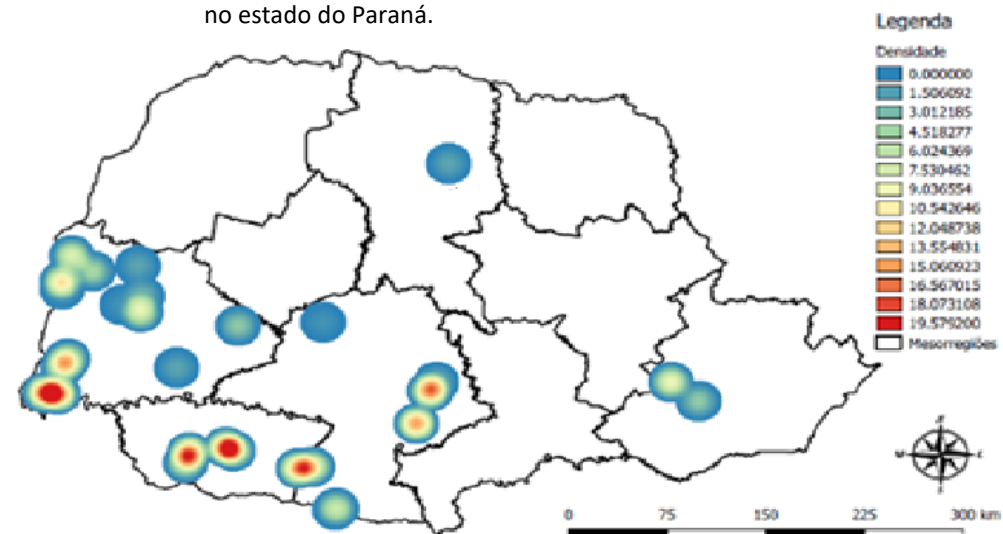


Figura 3 – Distribuição das propriedades caprinocultoras positivas e negativas para *Neospora caninum* no estado do Paraná.

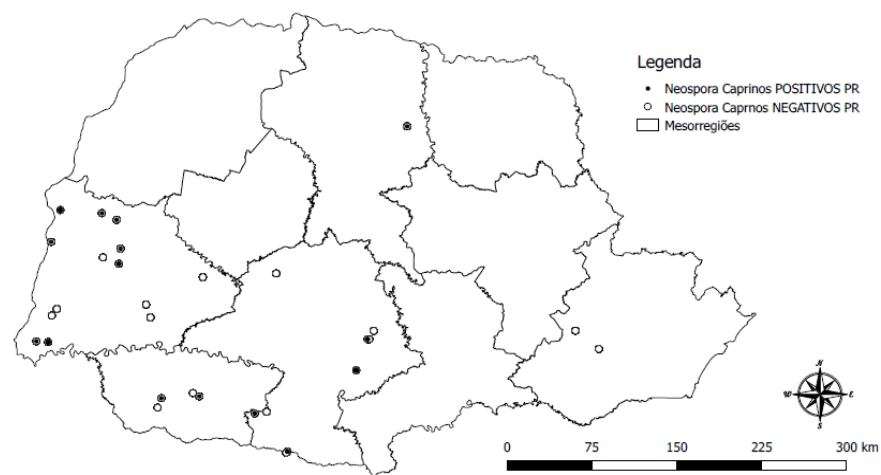
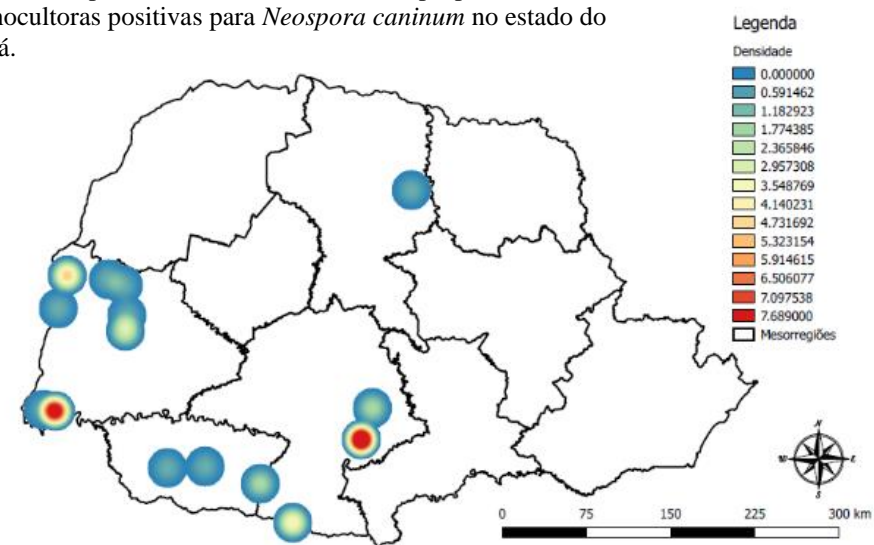


Figura 4 – Mapa de densidade de Kernel das propriedades caprinocultoras positivas para *Neospora caninum* no estado do Paraná.



Fatores associados à ocorrência de *T. gondii*.

A análise univariada dos dados revelou associação positiva entre a prevalência do *T. gondii* e as variáveis: presença de gatos, presença de felídeos selvagens, água fornecida em vasilhames fora das instalações, animais bebem água direto na fonte, local de abate para animais na propriedade, fornece ração concentrada aos animais, idade > 8 meses (Tabela 2).

Weigel et al. (1999) apontaram a presença de gatos nas propriedades rurais como sendo o principal fator de risco de contaminação ambiental e de seres humanos pelo *T. gondii*. Cavalcante et al. (2008) estudando rebanhos caprinos no Ceará relatam um risco 1,73 maior de infecção pelo *T. gondii* em fazendas caprinocultoras que tinham mais de 10 gatos. Tal constatação é justificada pela forma de criação livre desses animais, com acesso às diversas instalações zootécnicas, pastagens e fontes naturais de fornecimento e armazenamento de água. Embora não tenham o hábito de frequentarem o peridomicílio humano, felídeos selvagens têm livre acesso às pastagens, onde não raro, alimentam-se de carcaças de animais e restos placentários, infectando-se e posteriormente disseminando através das fezes oocistos do *T. gondii* pelo ambiente.

Em relação à água ofertada aos caprinos em vasilhames fora das instalações, Cavalcante et al. (2008) mencionaram a contaminação associada à baixa frequência de higienização dos bebedouros e instalações utilizadas para captação e armazenamento de grandes volumes de água, as quais praticamente são impossíveis de serem higienizadas, podendo dessa forma, tornarem-se fontes de infecção aos animais. Fato corroborado por Villari et al. (2009) ao descreverem que existe correlação entre o fornecimento de água não tratada aos animais e a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. A análise epidemiológica da contaminação da água por oocistos de *T. gondii*, pode ser extrapolada à contaminação por oocistos de *N. caninum* oriundos das fezes de cães. Semelhante ao descrito por Machacova et al. (2015), a implementação de boas práticas de higiene nas propriedades é fundamental para evitar a contaminação ambiental, de alimentos e água por oocistos de *T. gondii* e *N. caninum*.

Tabela 2 - Resultados da análise univariada para caprinos sororreagentes ao *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (ELISA indireto) e as variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Estado do Paraná – 2016.

Variáveis	<i>Toxoplasma gondii</i>			<i>Neospora caninum</i>		
	Positivos/Total (%)	P	OR (IC 95%)	Positivos/Total (%)	P	OR (IC 95%)
<i>Manejo reprodutivo</i>						
Reprodução assistida						
Monta controlada, inseminação artificial	82/304 (27,0)	0,042	0,71 (0,51-0,98)	30/353 (8,5)	0,1913	-
Monta natural sem controle	140/411 (34,0)			26/428 (6,0)		
<i>Manejo Alimentar</i>						
Fornece ração concentrada aos animais						
Sim	169/508 (33,3)	0,0154	1,84 (1,14-2,92)	38/515 (7,4)	0,0328	4,77 (1,13-20,01)
Não	26/122 (21,3)			2/122 (1,6)		
<i>Produção</i>						
Sistema de Produção						
Confinamento, semi-confinamento	164/508 (32,3)	0,0001	0,18 (0,11-0,31)	40/515 (7,8)	0,0035	-
Extensivo	58/81 (71,6)			0/81 (0,0)		
<i>Água</i>						
Água fornecida em Vasilhames fora das instalações						
Sim	58/200 (29,0)	0,0490	3,16 (1,06-9,36)	12/198 (5,7)	0,3385	-
Não	31/173 (18,0)			1/42 (2,4)		
Animais bebem água direto na fonte						
Sim	59/150 (39,3)	0,0068	2,91 (1,36-6,23)	12/160 (7,5)	0,7863	-
Não	10/55 (18,2)			4/62 (6,4)		
Ocorrência de mortes						
Morte até o desmame						
Sim	101/330 (30,6)	0,5194	-	30/347 (8,6)	0,0069	9,65 (1,30-71,67)
Não	35/103 (34,0)			1/103 (0,9)		

<i>Idade</i>						
Adulto acima de 8 meses						
Sim	101/264 (38,2)	0,0001	2,53 (1,67-3,84)	9/246 (3,7)	0,3733	-
Não	43/219 (19,6)			12/224 (5,3)		
Diversos						
Local adequado para abate de animais na propriedade						
Sim	127/229 (42,5)	0,0001	2,35 (1,67-3,30)	21/289 (7,3)	0,4642	-
Não	79/330 (23,9)			19/327 (5,8)		
Presença de Gatos						
Sim	145/443 (32,7)	0,0032	2,26 (1,32-3,87)	14/433 (3,2)	0,0001	0,28 (0,13-0,62)
Não	19/107 (17,8)			13/124 (10,5)		
Presença de felídeos selvagens						
Sim	52/90 (57,8)	0,0065	1,97 (1,20-3,24)	3/97 (3,0)	0,2199	-
Não	92/225 (41,0)			15/232 (6,5)		
Gatos se alimentam de restos placentários						
Sim	44/173 (25,4)	0,0001	2,53 (1,56-4,09)	3/82 (3,6)	0,3485	-
Não	282/320 (88,1)			26/411 (6,3)		

O abate de animais realizado nas propriedades rurais, mesmo que realizado em local determinado a este fim, nem sempre ocorre em condições higiênico-sanitárias satisfatórias; sendo permitido apenas para consumo próprio, ou seja, para a comercialização das carcaças é necessário o abate em frigoríficos credenciados. Nesses locais frequentemente verifica-se a presença de sangue e vísceras no chão, os quais são grandes atrativos para gatos. A presença de roedores em depósitos de suplementos é outro fato que deve ser considerado como atrativo para gatos, que acabam defecando e eliminando oocistos que são posteriormente ingeridos pelos animais junto com os alimentos (ROMANELLI et al., 2007).

Em relação a idade, observou-se associação positiva para animais acima de oito meses, aumentando em 2,53 vezes o risco de ocorrência da toxoplasmose. Anderlini et al. (2011) estudando rebanhos caprinos no estado de Alagoas constataram

associação positiva entre a prevalência do *T. gondii* em animais adultos quando comparados aos mais jovens. Jittapalapong et al. (2005) observaram que animais mais velhos (idade superior a dois anos) eram 2,70 vezes mais propensos a positividade ao *T. gondii*. Este fato é explicado pela maior chance dos animais com o passar do tempo, aumentar a chance de se infectarem ingerindo oocistos no meio ambiente contaminado.

A variável reprodução assistida (monta controlada e inseminação artificial) quando comparada à monta natural sem controle, apresentou-se como fator protetor para a prevalência do *T. gondii*. Pereira et al. (2012) estudando a prevalência do *T. gondii* em rebanhos caprinos, encontraram associação significativa para a monta natural na análise multivariada, aumentando em 6,09 vezes a chance de ocorrência da toxoplasmose quando utilizada tal prática. Propriedades onde existe o emprego de técnicas reprodutivas refletem a adoção de boas práticas e manejos na produção e melhor seleção de seus reprodutores, indicando maior cuidado sanitário além de melhor tecnificação.

O sistema de produção do tipo confinamento e semi-confinamento, apresentaram-se como fator protetor para ocorrência do *T. gondii*, quando comparados ao sistema extensivo. Os dados observados são corroborados por Pinheiro Jr et al. (2009) ao constatarem que propriedades ovinocultoras nas quais o sistema de produção era extensivo, apresentaram 2,3 vezes mais chances de ocorrência do *T. gondii*, quando comparadas aquelas onde o sistema era intensivo. Por outro lado, Pereira et al. (2012) estudando a toxoplasmose em rebanhos caprinos no estado de Pernambuco, constataram na análise univariada 2,40 mais chance de positividade para *T. gondii* quando o regime de produção era intensivo. A permanência dos animais por longos períodos no pastoreio coincide com maior exposição dos animais às pastagens e fontes de água contaminadas por oocistos.

Quando avaliado o tamanho dos rebanhos, constatou-se que rebanhos pequenos e médios (< 100 animais) quando comparados aos grandes rebanhos, apresentaram associação significativa na análise univariada, revelando-se como fator de risco para ocorrência do *T. gondii* ($p=0,0361$; OR=1,53 IC95% 1,02-2,30). Rebanhos pequenos sugerem maior aglomeração dos animais, com maior probabilidade de contato com as diversas vias de transmissão presentes no ambiente, Ossani et al. (2016) ao avaliarem a soroprevalência do *T. gondii* em rebanhos ovinos com aptidão leiteira no estado de Santa Catarina, sugerem que a alta densidade poderia contribuir para uma maior taxa de infecção dentre esses animais. Quando os gatos estão presentes nas propriedades,

devido ao fato de serem criados soltos, têm maior chance de entrar em contato com restos placentários e carcaças de animais mortos, contaminando-se e disseminando no ambiente oocistos do *T. gondii* através das fezes (FARIA et al., 2010).

Fatores associados à ocorrência de *N. caninum*.

A variável fornecimento de ração concentrada aos animais apresentou-se como fator de risco, aumentando em 4,77 a chance de ocorrência do *N. caninum*; enquanto que morte até o desmame, aumenta em 9,65 vezes o risco de ocorrência do *N. caninum* (Tabela 2).

A suplementação alimentar com ração concentrada é prática necessária na criação de animais ruminantes em períodos de escassez de pastagem. Todavia o armazenamento deste alimento requer depósitos apropriados. Comumente observa-se a presença de cães abrigando-se nesses locais, onde acabam por defecar eliminando oocistos do *N. caninum* nas fezes, contaminando os alimentos armazenados, conforme descrito por Dubey & Schares, (2011).

No presente estudo observou-se 8,6% de mortalidade de cabritos até o período de desmame, contudo não foi realizado diagnóstico etiológico. Embora a observação da ocorrência de mortes neonatais ou abortamentos não sejam causadores diretos da neosporose, existe a probabilidade de disseminação do agente em rebanhos, quando cães acabam por se alimentar de restos placentários ou abortamentos e neonatos que foram infectados pelo *N. caninum* durante a gestação. Contudo, Buxton; McAllister; Dubey (2002) relatam que a primo infecção do *N. caninum* em ovelhas e cabras pode ocorrer de forma fatal para o feto, entretanto, em próximas gestações, a infecção fetal pode ser relativamente incomum, fato atribuído a uma melhor imunidade materna adquirida nessas espécies.

Conclusões

A pesquisa realizada, através da aplicação do questionário sócio epidemiológico, aponta para importantes prevalências do *T. gondii* e *N. caninum* pelo estado, com maior prevalência da toxoplasmose. O estudo das variáveis associadas à essas parasitoses, permitiu constatar deficiências de manejo ambiental e saneamento, alimentação, presença de hospedeiros e tipo de exploração; além de subsidiar programas sanitários destinados aos profissionais envolvidos na cadeia produtiva quanto à prevenção do *T. gondii* e do *Neospora caninum*. Este é o primeiro estudo da neosporose acometendo rebanhos caprinos no Paraná, Brasil. Além disso, a diminuição da prevalência da toxoplasmose em caprinos refletirá na saúde pública, uma vez que esses animais são fontes de infecção para o homem.

REFERÊNCIAS

ANDERLINI, G. A.; MOTA, R. A.; FARIA, E. B.; CAVALCANTI, E. F.; TORRES, S. F.; VALENÇA, R. M. B.; PINHEIRO, JR. J. W.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L. Occurrence and risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* in goats in the State of Alagoas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 157-162, 2011.

ARRAES-SANTOS, A. I., ARAÚJO, A.C., GUIMARÃES, M.F., SANTOS, J.R., PENA, H.F.J., GENNARI, S.M., AZEVEDO, S.S., LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 5, p. 14–18, 2016.

BUXTON, D. .; MCALLISTER, M. M. .; DUBEY, J. P. . The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 546–552, 2002.

CAVALCANTE, A. C. R., CARNEIRO, M., GOUVEIA, A. M. G., PINHEIRO, R. R.; VITOR, R. W. A. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. (1), p. 36–41, 2008.

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. Epi Info, Version 6: a word processing, data bases, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, Georgia: **Center for Diseases Control and Prevention**, 1994.

DUBEY, J.P., SCHARES, G. Neosporosis in animals – the last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 90–108, 2011.

ESRI. ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: **Environmental Systems Research Institute**. 2011.

FARIA, E. B., GENNARI, S. M., PENA, H. F. J., ATHAYDE, A. C. R., SILVA, M. L. C. R.; AZEVEDO, S. S. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 1–2, p. 126–129, 2007.

FARIA, CAVALCANTI, E. B. E. F. T. S. F. MEDEIROS, E. S. PINHEIRO-JÚNIOR, J. W. AZEVEDO, S. S. ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A. Risk Factors Associated with *Neospora caninum* Seropositivity in Sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 1, p. 197–199, 2010.

FIGLIUOLO, L. P. C., RODRIGUES, A.A.R., VIANA, R.B., AGUIARA, D.M., KASAIA, N.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 55, n. 1–3, p. 29–32, 2004.

FORTES, M. S., MORI, F.M. R. L., CALDART, E., CONSTANTINO, C., EVERS, F., PAGLIARI, S., ALMEIDA, J. C., BARROS, L. D., FREIRE, R. L., GARCIA, J. L., HEADLEY, S. H., NAVARRO, I. T.; BIONDO, A. W. Caprine toxoplasmosis in Southern Brazil: a comparative seroepidemiological study between the indirect immunofluorescence assay, enzyme linked immunosorbent assay, and the modified agglutination test. **Tropical Animal Health and Production**. v. 50, p. 413-419, 2018.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GENNARI, S. M.; MACHADO, R. Z.; LUZ PEREIRA, A. B.; SINHORINI, I. L. *Toxoplasma gondii*: comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. **Experimental Parasitology**, v. 113, p. 100–105, 2006.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; BIAZZONO, L.; FREIRE, R. L.; JUNIOR, J. D. S. G.; CRYSSAFIDIS, A. L.; BUGNI, F. M.; CUNHA, I. A. L.; HAMADA, H. H.; DIAS, R. C. F. Protective activity against oocyst shedding in cats vaccinated with crude rhoptry proteins of the *Toxoplasma gondii* by the intranasal route. **Veterinary parasitology**, v. 145, n. 3, p. 197-206, 2007.

GARCIA, G., SOTOMAIOR, C., NASCIMENTO, A. J., NAVARRO, I. T.; SOCCOL, V. T. *Toxoplasma gondii* in goats from Curitiba, Paraná, Brazil: risks factors and epidemiology. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 1, p. 42–47, 2012.

IBGE. Instituto de Geografia e Estatística - Ibge. **Estatísticas do registro civil 2014**, v. 41, p. 1–81, 2015.

JITTAPALAPONG, S., SANGVARANOND, A., PINYOPANUWAT, N., CHIMNOI, W., KHACHAERAM, W., KOIZUMI, S.; MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 17–22, 2005.

LIMA, J. T. R., AHID, S. M. M., BARRÊTO JÚNIOR, R. A., PENA, H. F. J., DIAS, R. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Science**. v. 45, p. 81–86, 2008.

MACHACOVA, T., BARTOVA, E., SEDLAK, K., BUDIKOVA, M.; PICCIRILLO, A. Risk factors involved in transmission of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in rabbit farms in Northern Italy. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine Ann Agric Environ Med**, v. 22, n. 4, p. 677–679, 2015.

MAINARDI, R. S., STACCHISSINI, A.V.M., LANGONI, H., PADOVANI, C.R.; MODOLO, J.R. Soroprevalência de *toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 9, n. 2, p. 97-99, 2000.

OSSANI, R. A., MOURA, A. B., FEDERLE, M., SOUSA, A. P., ORIDES, M., SARTOR, A.; TOALDO, H. A. *Toxoplasma gondii*: Soroprevalência em ovinos com aptidão leiteira na mesorregião oeste de Santa Catarina, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 4, p. 672–678, 2016.

PEREIRA, M. DE F., PEIXOTO, R. DE M., LANGONI, H., GRECA JUNIOR, H., AZEVEDO, S. S. DE, PORTO, W. J. N.; MOTA, R. A. Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 140–146. 2012.

PINHEIRO JR, J. W., APARECIDO MOTA, R., ALICE DA FONSECA OLIVEIRA, A., BENTO FARIA, E., FERNANDO PITA GONDIM, L., VIEIRA DA SILVA, A.; AIRES ANDERLINI, G. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. **Parasitology Research**, v. 105, p. 709-715, 2009.

ROMANELLI, P. R., FREIRE, R. L., VIDOTTO, O., MARANA, E. R., OGAWA, L., DE PAULA, V. S. O., GARCIA, J.L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 2, p. 202–207, 2007.

SEAB/PR; SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL – DERAL. 2016. http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Tab_prod_corte_.pdf. Acesso em 15/02/16.

SOUSA, R. A., LEMOS, J. F., LOPES, C. D.; SANTOS, K. R. SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI *Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS DO SUL DO ESTADO DO PIAUÍ, BRASIL. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 68, n. 1, p. 10–12, 2008.

TEMBUE, A. A. S. M., Ramos, R. A. N., Sousa, T. R., Albuquerque, A. R., Costa, A. J., Meunier, I. M. J., Faustino, M. A. G.; Alves, L.C. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 246–248, 2011.

VILLARI, S., G. VESCO, E. PETERSEN, A. CRISPO; W. BUFFOLANO. RISK FACTORS FOR TOXOPLASMOSIS IN PIGS BRED IN SICILY, SOUTHERN ITALY. **VETERINARY PARASITOLOGY**, v. 161, p. 1–8, 2009.

WEIGEL, R. M., DUBEY, J. P., DYER, D.; SIEGEL, A. M. Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, v. 60, n. 5, p. 793–798. 1999.

6 ARTIGO D

“AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE EM CARNEIROS REPRODUTORES DO SUL DO BRASIL, COMO SINALIZADORES DE PERDAS NO SISTEMA DE PRODUÇÃO”

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a prevalência da toxoplasmose e neosporose e os fatores a elas associados em ovinos machos reprodutores do Rio Grande do Sul. Foram analisadas 1.800 amostras de soro coletadas em 705 propriedades. A análise sorológica foi realizada por meio da reação de ELISA indireta para detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, e por meio da reação de Imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* (positivos ≥ 50). Os resultados foram: 33,05% (595/1800) de soropositividade ao *T. gondii*, 18,44% (332/1800) ao *N. caninum*, sendo 8,94% (161/1800) reagentes aos dois agentes. As variáveis “tamanho da propriedade (< 500ha)” (OR=1,94), “tamanho do rebanho (< 100 animais)” (OR=1,44), “sistema de criação (semi-intensivo/intensivo) (OR=1,71), “monta natural sem controle” (OR=1,97), “pastoreio dos ovinos em outras propriedades” (OR=1,87), apresentaram-se como fator de risco para ocorrência do *T. gondii* e as variáveis “tamanho da propriedade (< 500ha)” (OR=1,86), “tamanho do rebanho (< 100 animais)” (OR=1,42), “sistema de criação (semi-intensivo/intensivo) (OR=1,46) e “monta natural sem controle” (OR=2,81) apresentaram-se como fatores de risco para ocorrência do *N. caninum*. Estas taxas revelam importantes prevalências dos agentes no Estado do Rio Grande do Sul, além de estimarem as perdas na pecuária ovina e o potencial zoonótico do *Toxoplasma gondii* para os consumidores e para as pessoas envolvidas na cadeia produtiva, servindo de subsídios para futuras ações de controle, educação sanitária e definição de políticas públicas no Estado.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; *Neospora caninum*; ovinos; fatores de risco, Elisa indireta.

**“EPIDEMIOLOGICAL EVALUATION OF TOXOPLASMOSIS AND
NEOSPOROSIS IN BREEDING RAMS OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL
AND ITS DELETERIOUS EFFECTS ON SHEEP PRODUCTION”**

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the sheep production profile, to estimate the productive losses resulting from the management of toxoplasmosis and neosporosis and the associated factors in breeding rams in Rio Grande do Sul. For this, 1,800 ovine serum samples were collected. The serological analysis were performed by the indirect ELISA for *Toxoplasma gondii* and by indirect immunofluorescence (IFN) reaction for *Neospora caninum* (positive samples ≥ 50). The results were: 33.05% (595/1800) of seropositivity to *T. gondii*, 18.44% (332/1800) to *N. caninum* and 8.94% (161/1800) of simultaneous frequency of both antibodies. The variables "stock size (< 500ha)" (OR = 1.94), "flock size (< 100 animals)" (OR = 1.44) "Breeding system (semi-intensive / intensive) (OR = 1.71), "natural mating without control" (OR = 1.97); "Sheep grazing on other properties" (OR = 1.87), were presented as a risk factor for the occurrence of *T. gondii* and "property size (< 500ha)" (OR = 1.86), "herd size (OR = 1.46), breeding system (semi-intensive / intensive) (OR = 1.46) and "natural mating without control" (OR = 2.81) were presented as risk factors for the occurrence of *N. caninum*. These rates denote important prevalence of agents in the State of Rio Grande do Sul, as well as estimating losses in sheep farming and the zoonotic potential of *T. gondii* for consumers and for people involved in the production chain, still serving as subsidies for future control actions, health education and as basis for the implementation of public policies in the state.

Key words: *Toxoplasma gondii*; *Neospora caninum*; sheep; risk factors; indirect Elisa.

Introdução

O estado do Rio Grande do Sul é o maior da região Sul do Brasil e apresenta dois biomas distintos; uma faixa da Mata Atlântica de 37% e o Pampa gaúcho (Campos Sulinos), que representa 63% do território do estado, sendo este último dominado por pastagens naturais de gramíneas, que são à base nutricional da produção de ruminantes na região (NABINGER et al., 2000).

O estado considerado o maior produtor nacional de ovinos, apresentou um rebanho de aproximadamente 4 milhões de cabeças no ano de 2012, representando 24,4% da produção brasileira, estimada em 16,8 milhões de cabeças (IBGE, 2012). No período entre 2009 e 2011, dois municípios concentraram produção superior a 670.000 cabeças, além de outros oito municípios com produção superior a 100.000 cabeças no mesmo período (Atlas Sócioeconômico, 2016). A ovinocultura no estado faz parte da tradição gaúcha e apresenta grande importância econômica e cultural, todavia o perfil característico da produção é voltado em sua grande maioria para a pecuária de subsistência (THOMAS et al., 2016).

Embora apontado como um estado economicamente desenvolvido, tem sido observado um contraste econômico entre as metades Sul e Norte do estado (MENEZES E FEIJÓ, 2008), sendo a criação de ovinos concentrada na metade menos desenvolvida. Santos et al. (2011) identificaram a distribuição da ovinocultura no estado, como mais concentrada na mesorregião Sudoeste com 53% do rebanho, seguida pela Sudeste com 23%, Centro Ocidental com 9%, Noroeste com 8%, Metropolitana 3% e mesorregiões Nordeste e Centro Oriental com 2% cada.

Nesse contexto, a toxoplasmose e a neosporose, enfermidades causadas pelos protozoários *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, podem apontar para perdas reprodutivas e econômicas decorrentes de infecção, oriundas de práticas inadequadas de manejo nos rebanhos ovinos. *Toxoplasma gondii* é um dos principais agentes etiológicos de origem parasitária envolvidos no abortamento de ovinos e caprinos nos Estados Unidos e Escócia (DUBEY; KIRKBRIDE, 1984; UGGLA; BUXTON, 1990). Larsson et al. (1980) constataram a presença de anticorpos contra *T. gondii* em rebanhos ovinos estudados no município de Uruguaiana no Estado do Rio Grande do Sul. Além da transmissão horizontal e vertical, estudos experimentais apontam para uma possível transmissão sexual do *Toxoplasma gondii* em ovinos por meio de sêmen contaminado (LOPES et al., 2009), contudo o impacto dessa via de transmissão ainda é desconhecido.

Pinto et al. (2012) apontaram o *N. caninum* como causa primária de aborto em um surto ocorrido em rebanho ovino estudado no estado do Mato Grosso do Sul, apresentando uma taxa de abortamento de 5,38%.

De acordo com Tenter. (2009), mamíferos e aves destinados ao consumo humano podem servir como hospedeiros intermediários do *T. gondii*, tornando-se potencial via de transmissão para o homem.

A descrição do consumo de carne e derivados cárneos crus ou malcozidos está diretamente associada a surtos de toxoplasmose humana (BONAMETTI et al., 1997; BELFORT-NETO, 2007; CHOI et al., 1997). No Rio Grande do Sul além da tradição na criação ovina, existe a cultura do churrasco e fabricação de embutidos frescos, muitas vezes, importante fonte de renda de pequenas comunidades.

Considerando o tamanho do rebanho ovino no Estado, o potencial zoonótico da toxoplasmose e a importância reprodutiva e econômica dos agentes pesquisados, o presente estudo objetivou avaliar o perfil da ovinocultura, estimar as perdas produtivas decorrentes de manejos sinalizados pela determinação da prevalência da toxoplasmose e neosporose, assim como os fatores a elas associados em carneiros reprodutores no Rio Grande do Sul.

Material e Métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais – Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, registrado sob o nº010 /2014. Estas atividades fazem parte do projeto Embrapa (Caracterização zoossanitária da caprinocultura e ovinocultura no Brasil: epidemiologia, fatores de risco e impacto econômico das enfermidades) registrado sob número 02.12.01.032.00.00,

Área de estudo

O estado do Rio Grande do Sul confrontando-se ao norte com o Estado de Santa Catarina, ao Sul com o Uruguai, a Leste com o Oceano Atlântico e a Oeste com a Argentina e possui 497 municípios distribuídos em sete mesorregiões: Centro Ocidental, Centro Oriental, Metropolitana, Nordeste, Noroeste, Sudeste e Sudoeste.

Amostragem

Como universo amostral, a Secretaria da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul selecionou 705 propriedades, em 225 municípios com maior representatividade da ovinocultura entre as sete mesorregiões do Estado.

O delineamento amostral realizado foi descrito por Machado et al. (2015) ao determinar a soroprevalência da *Brucella ovis* em reprodutores ovinos no Rio Grande do Sul.

O tamanho da amostra (n), 1800 amostras, foi calculado utilizando o programa OPEN EPI (Versão 3). Com base no estudo de Ferreira et al. (2016) estimou-se para *T. gondii* a prevalência de 41,3%, erro de 3% e para *N. caninum* a prevalência de 16,3% e erro de 2,1%; adotou-se nível de confiança de 95% e EDFF de 1,5 para ambos os cálculos. Dessa forma, obteve-se 1551 amostras para *T. gondii* e 1781 para *N. caninum*.

Para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* utilizou-se a técnica de ELISA indireta, sendo consideradas sororeagentes as amostras com densidade óptica acima da média dos controles negativos acrescida de três desvios padrão, como descrito por Garcia et al., (2007).

A concentração padronizada de antígeno de *T. gondii* foi de 2,5µg/mL, os soros foram titulados à razão de 1:100 e o conjugado (Sigma Aldrich®, USA) diluído à 1:4.000. Todas as amostras foram testadas em duplicata. As condições ótimas de concentração de antígeno, diluição das amostras de soro e do conjugado foram estabelecidas pela maior razão entre a média de absorbâncias das amostras positivas e a média das amostras negativas.

Para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* utilizou-se Kits comerciais (IMUNODOT®, JABOTICABAL, BRASIL) de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), sendo consideradas reagentes amostras com títulos ≥ 50 .

O programa EpiInfo 7.1.5.2 (DEAN et al., 1994) foi utilizado para tabular as variáveis que compuseram o questionário epidemiológico junto aos resultados sorológicos encontrados. As variáveis foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) corrigido de Yates e o teste exato de Fisher. O risco foi estimado a partir dos valores levantados através da razão de chances (“Odds Ratio”, OR) e o respectivo intervalo de confiança de 95%.

As propriedades foram mapeadas por meio do Sistema de Posicionamento Global (GPS). A construção do *shapefile* foi realizada por meio do software ArcGIS® (ESRI, 2011). A distribuição dos pontos, análise de agrupamento e densidade de Kernel foram construídos por meio do software Qgis.

Resultados e Discussão

Em todas as mesorregiões estudadas foram identificadas propriedades positivas para os dois agentes, sendo que em 54,3% (383/705) das propriedades constatou-se a presença de ovinos sororreagentes para *T. gondii* (Figuras 1 e 2), e 35,2% (248/705) para *N. caninum* (Figuras 3 e 4), sendo que destes 19,0% (134/705) foram positivos para os dois agentes.

O presente estudo, mesmo que realizado em machos reprodutores, abrangeu todo o estado e os resultados das análises sorológicas revelaram-se semelhantes, sendo 33,05% (595/1800) de frequência de anticorpos IgG anti- *T. gondii* (tabela 1 e figura 1), 18,44% (332/1800) de frequência de anticorpos IgG anti- *N. caninum* (tabela 1 e figura 2) e 8,94% (161/1800) de frequência de anticorpos para os dois agentes. Em estudo anterior, Ferreira et al. (2016) avaliaram dez rebanhos ovinos distribuídos em quatro mesorregiões do estado (Centro Ocidental, Noroeste, Sudoeste e Sudeste), onde observaram prevalências de 41,3% do *T. gondii*, 16,3% do *N. caninum* e de 8% de prevalência para os dois agentes.

Tabela 1- Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em soros de ovinos machos reprodutores em propriedades de sete mesorregiões do Rio Grande do Sul, Brasil – 2016.

Mesorregiões	Nº de Propriedades Mesorregiao	Nº de Propriedades Coletadas (%)	Positivos <i>T.gondii</i>		Positivos <i>Neospora caninum</i>	
			Nº	(%)	Nº	(%)
Centro Ocidental	5.374	82 (1,53)	63/164	(38,41)	48/164	(29,26)
Centro Oriental	2.359	38 (1,61)	24/51	(47,05)	12/51	(23,52)
Metropolitana	4.114	61 (1,48)	60/138	(43,47)	37/138	(26,81)
Nordeste	3.324	49 (1,47)	35/68	(51,47)	22/68	(32,35)
Noroeste	8905	133 (1,49)	102/270	(37,77)	52/270	(19,25)
Sudeste	11.154	168 (1,51)	158/464	(33,97)	76/464	(16,34)
Sudoeste	11.644	174 (1,49)	153/645	(23,72)	85/645	(13,17)
Total	46874	705 (1,50)	595/1800	(33,05)	332/1800	(18,44)

Figura 1 – Rebanhos ovinos positivos e negativos para *Toxoplasma gondii* no Rio Grande do Sul.

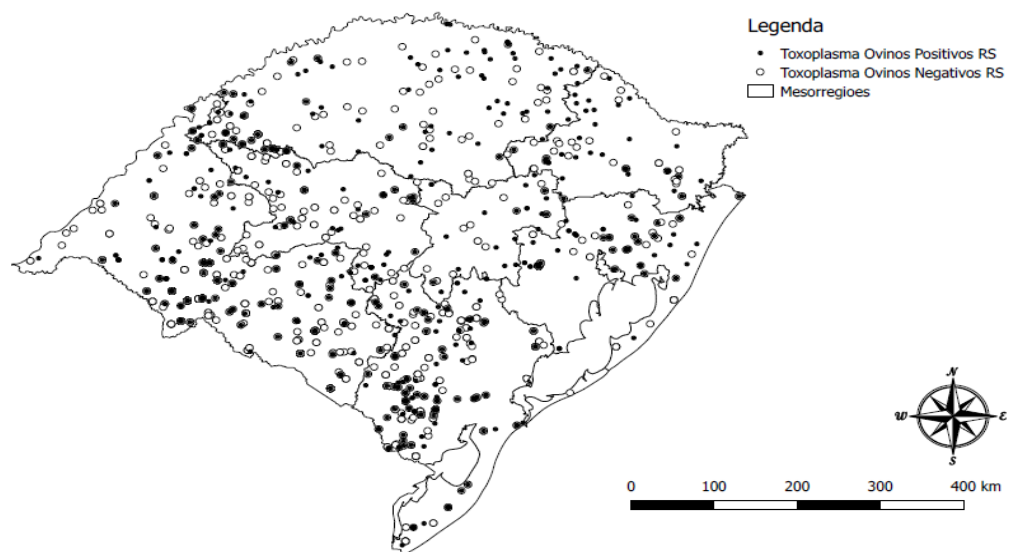


Figura 2 – Rebanhos ovinos positivos e negativos para *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul.

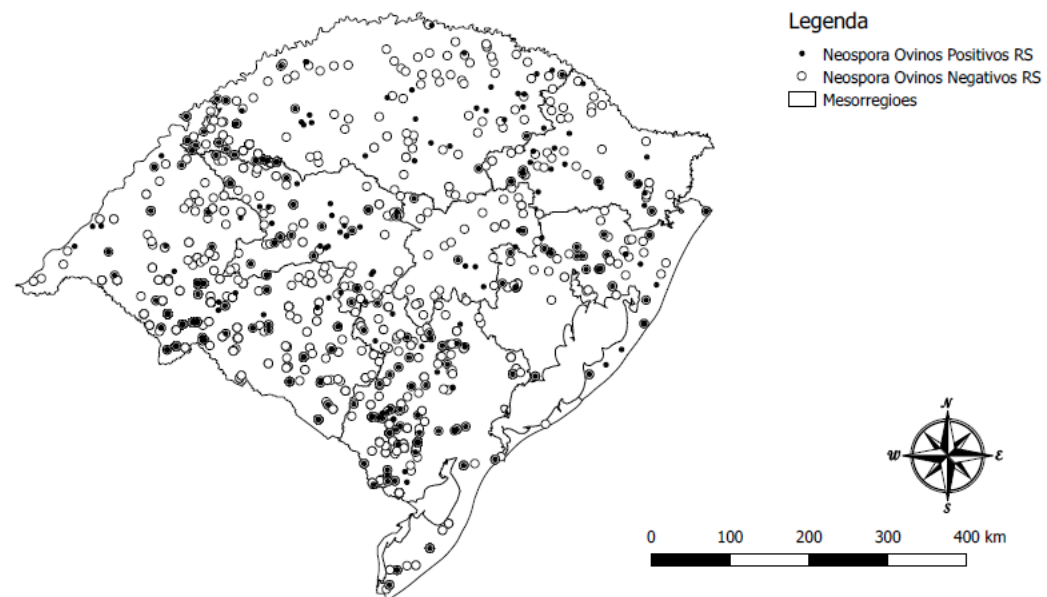


Figura 3- Mapa de densidade de Kernel para rebanhos ovinos positivos para *Toxoplasma gondii* no Rio Grande do Sul.

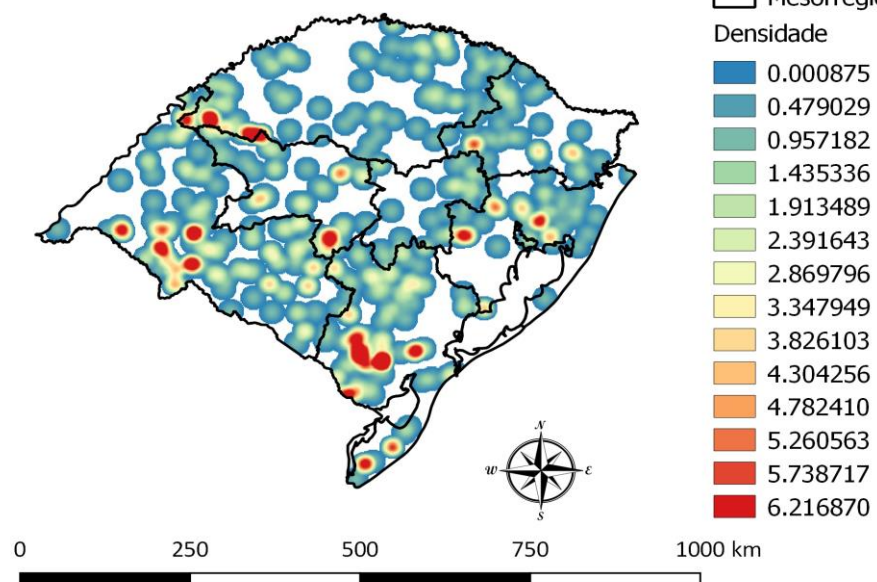
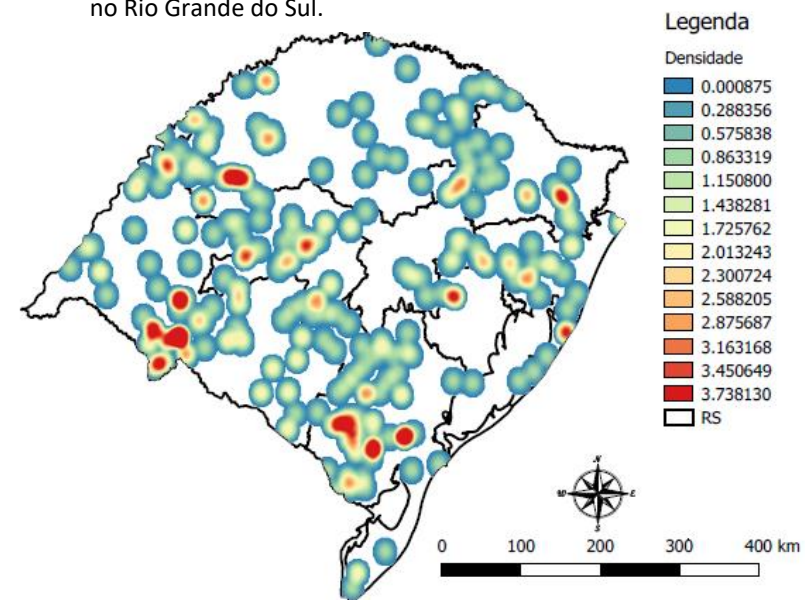


Figura 4- Mapa de densidade de Kernel para rebanhos ovinos positivos para *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul.



Perfil das Propriedades e manejos praticados

A avaliação das características de produção e reprodução com os resultados da presença de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* são apresentados na Tabela 2. As variáveis propriedades pequenas e médias (< 500 ha) e tamanho do rebanho (< 100 animais) apresentaram associação significativa com maior chance de infecção pelos parasitas. Propriedades pequenas e médias (< 500 ha) apresentam 1,94 e 1,86 vezes mais chance de ocorrer a infecção pelo *T. gondii* e *N. caninum*, respectivamente, do que as grandes propriedades (\geq 500 ha) (Tabela 2). Propriedades menores onde, geralmente, a área de pastagem é limitada, sugerem maior aglomeração dos animais ao redor das fontes de infecção, ou seja, os gatos e cães habitando o peridomicílio, com livre acesso às pastagens, instalações zootécnicas, fontes naturais e de armazenamento de água. Esse mesmo raciocínio pode ser empregado quando avaliado o tamanho dos rebanhos, uma vez que rebanhos pequenos e médios (< 100 animais) quando comparados aos grandes rebanhos, também apresentaram associação significativa revelando-se como fator de risco para a maior ocorrência dos agentes.

Devido à falta de pastagens, principalmente no período de inverno, é prática comum pequenos produtores alugarem o excedente de pastagem de outras propriedades, assim sendo, a variável pastoreio dos ovinos em outras propriedades apresentou associação significativa à prevalência do *T. gondii*, revelando-se como fator de risco, aumentando em 1,87 a chance de ocorrência da enfermidade. Este achado pode ser justificado pelo fato de pastagens excedentes sofrerem alta rotatividade de animais, que por vezes acabam reproduzindo-se nesses locais. Quando da presença de fêmeas infectadas pelo *T. gondii*, abortamentos e restos placentários podem ser importantes vias na contaminação ambiental.

Ao ser avaliada o tipo de exploração das propriedades, observou-se associação significativa quando a atividade é voltada à subsistência, com a ocorrência do *T. gondii* e *N. caninum*, apresentando-se como fator de risco para ambas as enfermidades (tabela 2). A exploração onde a atividade é voltada à subsistência geralmente coincide com menor área de pastoreio e conseqüente maior concentração dos animais em torno do peridomicílio, aumentando o contato com gatos e cães transmissores da toxoplasmose e da neosporose, respectivamente. Machado; Lima (1987) descreveram vários fatores relacionados ao maior risco a infecções, como convívio com outras espécies, más condições sanitárias do ambiente e inclusão de sobras de alimentos humanos na alimentação dos animais, realizados por

populações pobres das áreas rurais e urbanas em sistema de criações animais como fonte alternativa de renda.

O sistema de criação intensivo e/ou semi-intensivo quando comparados ao sistema extensivo, apresentaram-se como fatores de risco para ocorrência do *T. gondii*, aumentando em 1,71 o risco de ocorrência da enfermidade, e *N. caninum*, aumentando em 1,46 vezes a chance de ocorrência do agente. Nesses sistemas onde existe o confinamento dos animais, há maior risco de contaminação da alimentação estocada em depósitos, onde não raro, observa-se a presença de gatos e cães. Pereira et al. (2012) descreveram 2,4 mais chance de infecção por *T. gondii* em rebanhos caprinos quando o sistema de produção era intensivo; por outro lado, Pinheiro Jr et al. (2009) constataram que propriedades ovinocultoras onde sistema de produção era extensivo, apresentaram 2,3 vezes mais chances de ocorrência do *T. gondii*, quando comparadas aquelas onde o sistema era intensivo. Além do tamanho, características de relevo, vegetação, manejo nutricional, fontes de água e a presença de animais errantes e/ou selvagens na propriedade podem auxiliar no entendimento das diferenças regionais em relação ao tamanho da propriedade em si ser um fator de risco ou proteção.

Quanto ao tipo de manejo reprodutivo, a variável monta sem controle apresentou associação significativa, revelando-se como fator de risco para a ocorrência do *T. gondii*, aumentando o risco de infecção em 1,97 vezes e para o *N. caninum*, aumento de 2,81 vezes de chance de infecção. A mesma associação positiva entre a monta sem controle e a infecção pelo *T. gondii* foi descrita por Pereira et al. (2012), que embora tenham realizado estudo em rebanhos caprinos, descreveram a monta natural como fator de risco para infecção pelo *T. gondii*, aumentando em seis vezes mais a chance da ocorrência do agente quando utilizada tal prática.

Mesmo não tendo apresentado associação significativa às prevalências dos agentes estudados, observou-se frequência de uso de reprodutores emprestados oriundos de outras propriedades de 5,75% (30/522) em rebanhos que possuem até 25 animais, 6,43% (35/544) em rebanhos que possuem de 25 a 100 animais e 0,69% (5/728) em rebanhos com mais de 100 animais; tal prática pode ser considerada um potencial fator disseminador dos agentes em questão.

A transmissão sexual do agente por meio de sêmen contaminado é descrita experimentalmente por Lopes et al. (2013), contudo essa via pode ser questionada, uma vez que um reprodutor na fase aguda da doença não apresenta libido a contento para a realização da monta, fato decorrido dos sinais clínicos característicos da infecção, como por exemplo os quadros febris.

Embora não existam estudos descrevendo a transmissão sexual do *N. caninum* na espécie ovina, Abo-Shehada e Abu-Halaweh, (2010) em estudo realizado na Jordânia, descreveram a compra de animais saudáveis na substituição dos abatidos como fator protetor para a ocorrência da enfermidade.

Propriedades onde existe o emprego de técnicas reprodutivas, refletem a adoção de boas práticas e manejos na produção, melhor seleção de seus reprodutores, indicando maior cuidado sanitário além de melhor tecnificação.

Ao ser analisada a variável separação das ovelhas para parição observou-se associação significativa à prevalência do *N. caninum*, revelando-se como fator protetor para ocorrência da doença. A presença de local exclusivo na propriedade para as fêmeas prenhes e a separação das mesmas do restante do rebanho revelam maior atenção e cuidado dispensados pelos proprietários. Jolley et al. (1999) relataram que os abortos sequenciais de ovelhas cronicamente infectadas é devido à infecção fetal pelo *N. caninum*. No caso da ocorrência de abortos ou natimortos esses são mais facilmente identificados e retirados do acesso dos cães.

Oliveira et al. (2016) levando em consideração o rebanho ovino gaúcho de aproximadamente 4 milhões de cabeças, com cerca de 2,4 milhões de matrizes, estimou redução na produtividade de 1,87% causada pelo *T. gondii*, resultando na perda de aproximadamente 35 mil cordeiros por ano, o que segundo o autor, determinou um prejuízo aproximado de \$1,491 milhões.

Ao estudarem o *N. caninum* como causa primária de perdas produtivas nos rebanhos ovinos, Ferreira et al. (2016) e Pinto et al. (2012) afirmaram que este agente pode ser considerado um potencial causador de abortamentos, contudo, os dados obtidos são insuficientes para estimar as perdas reprodutivas e econômicas. Warleta et al. (2014) concluíram que o *N. caninum* determina uma baixa performance reprodutiva nos rebanhos ovinos.

Tabela 2 - Resultados dos testes de associação (qui-quadrado e *odds ratio*) para os ovinos sororreagentes ao *Toxoplasma gondii* (ELISA indireta) e *Neospora caninum* (ELISA indireta) e as variáveis de manejo, produção e reprodução em propriedades do Rio Grande do Sul - 2017.

Variáveis	<i>T. gondii</i>				<i>N. caninum</i>			
	Animais Sororreagentes	Animais não Reagentes	P	OR (IC 95%)	Animais Sororreagentes	Animais não Reagentes	P	OR (IC 95%)
Tamanho da Propriedade								
Pequena e médias (< 500 ha)	433	700	0,0001	1,94	245	888	0,0001	1,86
Grandes (acima de 500 ha)	161	505		(1,56-2,40)	86	580		(1,42-2,43)
Tamanho do Rebanho								
Pequenos e médios (<100 animais)	387	680	0,0003	1,44	219	848	0,0049	1,42
Grandes (acima 100 animais)	207	525		(1,17-1,76)	112	620		(1,11-1,83)
Sistema de Criação								
Pecuária semi-intensiva/intensiva	151	200	0,0001	1,71	82	269	0,0073	1,46
Pecuária extensiva	443	1006		(1,35-2,17)	249	1200		(1,10-1,94)
Separação Ovelhas para Parição								
Separadas	305	767	0,0001	0,60	163	909	0,0001	0,59
Não Separadas	289	439		(0,49-0,73)	168	560		(0,47-0,75)
Tipo de exploração								
Venda de Reprodutores, cria, recria e engorda	158	412	0,0013	0,69	86	484	0,0162	0,71
Subsistência	436	793		(0,56-0,86)	245	984		(0,54-0,93)

Manejo Reprodutivo								
Monta Natural sem controle	569	1107	0,0033	1,97	321	1355	0,0021	2,81
				(1,24-3,12)				(1,41-5,62)
Inseminação artificial e/ou Monta Controlada	24	92			9	107		
Pastoreio em outras Propriedades								
Sim	28	31	0,0237	1,8751	8	16	0,2996	-
Não	566	1175		(1,11-3,15)	164	517		

OR – Odds Ratio

Conclusões

Os resultados observados denotam importantes prevalências do *T. gondii* e do *N. caninum* em ovinos reprodutores nas sete mesorregiões do Estado do Rio Grande do Sul. O estudo de tais agentes, por meio da análise das variáveis envolvidas na produção, mesmo que realizado em uma população de machos, aponta para deficiências de manejo reprodutivo, pastoreio compartilhado e tipo de exploração, além do alerta quanto ao potencial zoonótico do *Toxoplasma gondii* para os consumidores e pessoas envolvidas na cadeia produtiva da carne ovina, servindo de subsídios para futuras ações de controle, educação sanitária e definição de políticas públicas no Estado.

Os resultados obtidos demonstram que o *T. gondii* e o *N. caninum* encontraram condições favoráveis à sua ampla disseminação nos rebanhos ovinos gaúchos, dessa forma medidas de controle devem ser dirigidas aos dois agentes na maioria das propriedades ovinocultoras do estado do Rio Grande do Sul.

REFERÊNCIAS

ABO-SHEHADA, M.; ABU-HALAWEH, M. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. **Preventive veterinary medicine**, 2010.

ATLAS SOCIOECONOMICO DO RIO GRANDE DO SUL. 2016. <http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/ovinos>

BELFORT-NETO, R., NUSSENBLATT, V., RIZZO, L., MUCCIOLI, C., SILVEIRA, C., NUSSENBLATT, R., BELFORT, R. High prevalence of unusual genotypes of *Toxoplasma gondii* infection in pork meat samples from Erechim, Southern Brazil. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, n. 1, p. 111–114, 2007.

BONAMETTI, A. M., PASSOS, J. DO N., DA SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. SURTO DE TOXOPLASMOSE AGUDA TRANSMITIDA ATRAVÉS DA INGESTÃO DE CARNE CRUA DE GADO OVINO. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 21–25, 1997.

CHOI, W. Y., NAM, H. W., KWAK, N. H., HUH, W., KIM, Y. R., KANG, M. W., CHO, S. Y.; DUBEY, J. P. Foodborne Outbreaks of Human Toxoplasmosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 175, p. 1280–1282, 1997.

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. Epi Info, Version 6: a word processing, data bases, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, Georgia: **Center for Diseases Control and Prevention**, 1994.

DUBEY, J. P.; KIRKBRIDE, C. A. Epizootics of ovine abortion due *Toxoplasma gondii* in north central United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 184, n. 6, p. 657-660, 1984.

ESRI. ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: **Environmental Systems Research Institute**. 2011.

FERREIRA, M. S. T.; VOGEL, F. S. F. ; SANGIONI, L. A. ; CEZAR, A S.; MENEZES, F. R. *Neospora spp.* and *Toxoplasma gondii* infection in sheep flocks from Rio Grande do Sul, Brazil. **Semina-Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 1397–1406, 2016.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; BIAZZONO, L.; FREIRE, R. L.; JUNIOR, J. D. S. G.; CRYSSAFIDIS, A. L.; BUGNI, F. M.; CUNHA, I. A. L.; HAMADA, H. H.; DIAS, R. C. F. Protective activity against oocyst shedding in cats vaccinated with crude rhoptry proteins of the *Toxoplasma gondii* by the intranasal route. **Veterinary parasitology**, v. 145, n. 3, p. 197-206, 2007.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2012. Disponível em: <http://sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.aspx=t&0=21=P>. Acesso em 15/04/15.

JOLLEY, W.R., MCALLISTER, M.M., MCGUIRE, A.M., WILLS, R.A. Repetitive abortion in Neospora-infected ewes. **Veterinary Parasitology**, 82, 251–257, 1999.

LARSSON, C. E., JAMRA, L. M. F., GUIMARÃES., E. C., PATTOLI, D. B. G., SILVA., H. L. L. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 14, p. 582–588, 1980.

LOPES, W. D. Z., SOUZA, F.A., COSTA, A.J., RODRIGUES, J.D.F., COSTA, G.H.N., SOARES, V.E.; SILVA, G.S. Semen variables of sheep (*Ovis aries*) experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. **Animal Reproduction Science**, v. 111, n. 2–4, p. 312–319, 2009.

LOPES, W. D. Z., RODRIGUEZ, J., SOUZA, SANTOS, T. R., SANTOS, R. S., ROSANESE, W. M., LOPES, W. R. Z., SAKAMOTO, C. A.; COSTA, A. J. Sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1–2, p. 47–56, 2013.

MACHADO, G., SANTOS, D.V., KOHEK, I., STEIN, M.C., HEIN, H.E., POETA, A.S., VIDOR, A.C.M.; CORBELLINI, L.G. Seroprevalence of *Brucella ovis* in rams and associated flock level risk factors in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 121, n. 1–2, p. 183–187, 2015.

MACHADO T.M.M.; LIMA J.D. Frequência de anticorpos anti-T. gondii em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 39, n. 2, p. 255-264, 1987.

MENEZES, G.; FEIJÓ, F.T. O contraste econômico entre as metades sul e norte do Rio Grande do Sul: uma aplicação do Modelo da Base Econômica. <http://www.fee.rs.gov.br/4-encontro-economia-gaucha/trabalhos/localizacao-sessao5-3.doc>. 2008.

NABINGER, C., DE MORAES, A.; MARASCHIN, G. E. Campos in Southern Brazil. **Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology**, p. 355-376, 2000.

OLIVEIRA, F. C., Oliveira, P. A., Cunha Filho, N. A., Aguiar, C. L. G., Pappen, F. G. Ruas, J. L., Farias, N. A. R. The incidence and productive significance of ovine toxoplasmosis in Southern Brazil. **Ciência Rural**, v. 46, n. 9, p. 1618–1621, 2016.

PEREIRA, M. DE F., PEIXOTO, R. DE M., LANGONI, H., GRECA JUNIOR, H., AZEVEDO, S. S. DE, PORTO, W. J. N.; MOTA, R. A. Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 140–146. 2012.

PINHEIRO JR, J. W., APARECIDO MOTA, R., ALICE DA FONSECA OLIVEIRA, A., BENTO FARIA, E., FERNANDO PITA GONDIM, L., VIEIRA DA SILVA, A.; AIRES ANDERLINI, G. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. **Parasitology Research**, v. 105, p. 709-715, 2009.

PINTO, A. P., BACHA, FLÁVIA B., SANTOS, B. S., DRIEMEIER, D., ANTONIASSI, N. A.B., RIBAS, N. L. K. S.; LEMOS, R. A. A. Sheep abortion associated with *Neospora caninum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 8, p. 739–742, 2012.

SANTOS, D. V.; AZAMBUJA, R. M.; VIDOR, A. C. Dados populacionais do rebanho ovino gaúcho. **A Hora Vetrinária**, v. 185, p. 12, 2011.

TENTER, A. M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 364–369, 2009.

THOMAS, L. R., Kohek, I., Mesquita, J. B. G., Costa, E. F., Silva, A. P. S. P. **Panorama da ovinocultura no Rio Grande do Sul Overview of sheep farming in Rio Grande do Sul, Brazil.** Disponível em:

<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:AMfaLlJBm7IJ:www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201611/24172521-see-artigo-12panorama-da-ovinocultura-no-rio-grande-do-sul.pdf+&cd=1&hl=pt-PT&ct=clnk&gl=br>>. Acesso em: 19 maio. 2017.

UGGLA, A.; BUXTON, D. Immune responses against *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination. **Revue Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties** v. 9, n. 2, p. 441–462, 1990.

WARLETA, M. G., HERMIDA, J. A. C., CERRILLO, J. R., BENAVIDES, J., GARCÍA, G. A., FUERTES, M., MORA, L. M. O.; MEZO, M. *Neospora caninum* infection as a cause of reproductive failure in a sheep flock. **Veterinary Research**, v. 45, 2014.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo contribuirá para melhor compreensão da toxoplasmose e da neosporose ovina no Brasil. Os dados parciais obtidos ao longo da pesquisa já subsidiaram o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) na elaboração do novo programa da ovinocaprinocultura brasileira.

A revisão sistemática da neosporose revelou que embora vinte e quatro artigos tenham descrito a prevalência do *Neospora caninum* nos rebanhos estudados, somente nove encontraram fatores associados à ocorrência do agente. A avaliação dos estudos componentes desta revisão permite clara identificação da dispersão da neosporose ovina nos diversos continentes avaliados, por meio das prevalências demonstradas. Fatores ambientais, manejo, idade dos animais; apresentaram-se como fatores associados à enfermidade. As variáveis tamanho das propriedades, tamanho de rebanho, idade, presença de cães e tipo de criação apresentaram maior frequência dentre os fatores encontrados, devendo assim, ser parte integrante dos questionários epidemiológicos em estudos futuros. Esta foi a primeira revisão sistemática da neosporose ovina já realizada.

A pesquisa realizada, por meio da aplicação do questionário sócio epidemiológico, permitiu a caracterização da ovinocaprinocultura nas seis mesorregiões estudadas no estado do Paraná e da ovinocultura nas sete mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul. Podendo concluir que :

Os resultados obtidos apontam para importantes prevalências do *T. gondii* e *N. caninum* nos ovinos e caprinos do Paraná e machos reprodutores do Rio Grande do Sul.

O estudo das variáveis envolvidas na produção associado aos fatores de risco encontrados, permitiu maior conhecimento das propriedades estudadas através da identificação das deficiências de manejo ambiental e saneamento, nutrição, presença de hospedeiros e tipo de exploração.

Além de subsidiar programas sanitários destinados a consumidores e pessoas envolvidas na cadeia produtiva quanto à prevenção do *Toxoplasma gondii*, servindo de subsídios para futuras ações de controle e educação sanitária nos estados estudados.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Figura – Mesorregiões do Estado do Paraná

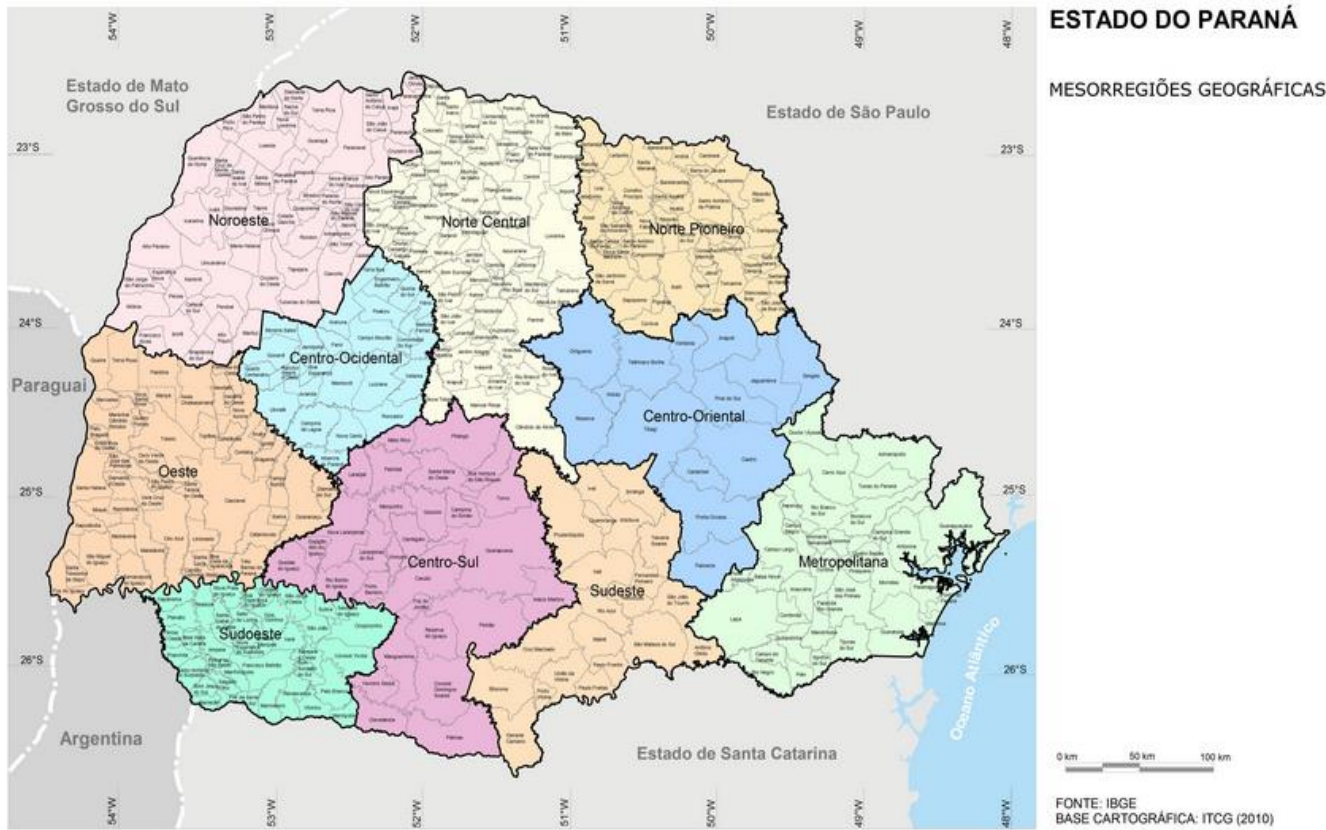


Figura – Mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul



ANEXOS

ANEXO A

Questionário Epidemiológico

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE CAPRINOS E OVINOS

QUESTIONÁRIO

PROJETO

CARACTERIZAÇÃO ZOSSANITÁRIA DA CAPRINOCULTURA E DA
OVINOCULTURA NO BRASIL: *Epidemiologia, fatores de risco e impacto econômico
das enfermidades*

Entrevista realizada por:

Município/Estado:

Técnico Responsável:

Código de Identificação da propriedade:

Data: ____ / ____ / ____

3.	Mão de obra familiar total de mulheres (mais de 15 e menos de 60 anos)	
4.	Mão de obra familiar total até 15 anos	
5.	Mão de obra familiar total com mais de 60 anos	
6.	Mão de obra contratada total de homens (mais de 15 e menos de 60 anos)	
7.	Mão de obra contratada total de mulheres (mais de 15 e menos de 60 anos)	
8.	Mão de obra contratada total até 15 anos	
9.	Mão de obra contratada total com mais de 60 anos	

Q8. Como paga a mão de obra contratada?

a. em dinheiro d. outros _____

b. com serviço

c. com produtos

Q9. Qual o valor médio da diária paga nos últimos 12 meses? R\$ _____

Q10. A mão-de-obra da caprino-ovinocultura já recebeu capacitação? Sim ____ Não ____

Q11. Se sim, em qual assunto foi o treinamento?

Manejo alimentar _____ Instalações _____ Manejo reprodutivo _____ Produção
higiênica de leite de cabra _____ Produção e conservação de forragens _____ Raças
e escolha de animais _____ Manejo sanitário _____ Escrituração zootécnica _____
Outros _____

PARTE III. INFRAESTRUTURA E NÍVEL DE CAPITALIZAÇÃO

Q12. Equipamentos/Construção

Item	Quant.	Área média	Item	Quant.
Casa			Trator	
Armazém			Debulhadeira	
Estábulo			Cata-vento	
Curral			Plantadeira	
Brete			Adubadeira	
Chiqueiro de porcos			Arado	

Aprisco ovinos/caprinos			Grade	
Cistema [*]			Cultivador	
Barreiro ^{**}			Policultor	
Açude ^{**}			Sulcador	
Poço ^{***}			Ensiladeira	
Rio			FORAGEIRA	
Silo metálico grãos ^{****}			Motor	
Silo forrageiro ^{*****}			Pulverizador	
Esterqueira			Carroça	
Outra (especificar)			Automóvel	
Outra (especificar)			Moto	

^{*} m³/litros; ^{**} m³/m³; ^{***} m³ por litros/h; ^{****} m³/sacos; ^{*****} m³/kg

Q13. Infra-estrutura na propriedade:

	Sim/Não
Energia elétrica	
Outras fontes de energia (Energia solar, biodigestor, gerador a diesel, cata-vento)	
Fonte permanente de água? Citar:	

Q14. Qual a qualidade da água da fonte permanente? _____

PARTE IV. CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO AGROPECUÁRIA E RECEITAS DA PROPRIEDADE

Q15. Quando suas atividades com a propriedade foram iniciadas? ANO _____

Q16. Há quanto tempo cria caprinos e/ou ovinos? _____

Q17. Se proprietário, como foi adquirida a propriedade?

- a. Por compra a vista
 b. Por compra financiada
 c. Por herança
 d. Por assentamento (reforma agrária)
 e. Outro _____

Q18. Qual o valor atual de mercado da propriedade, incluindo benfeitorias, animais e plantas: R\$ _____

Qual o valor atual de mercado da propriedade, apenas da terra nua: R\$ _____

Q19. Utilização da terra: produção e valor:

	Produção*	Valor
OVINOS		
Carneiros reprodutores		
Ovelhas matrizes		
Bonecos (as) acima de 8 meses		
Bonecos (as) até 8 meses		
CAPRINOS		
Bodes reprodutores		
Capras matrizes		
Caprinas (as) acima de 8 meses		
Caprinas (as) até 8 meses		
BOVINOS		
Bovinos de tração		
Touros		
Vacas		
Carreões		
Novilhas		
Bezerros até 1 ano		
DEMAIS ANIMAIS		

Eqüinos		
Muareis		
Asininos		
Frutas		
Grãos		
Pastagens		
Reserva Legal		

*Quantidade de animais no rebanho no caso de animais e kg nos demais casos, nos últimos 12 meses.

Q20. Quais foram o consumo interno e as vendas da fazenda nos últimos 12 meses?

Produto	Quantidade consumida na fazenda	Quantidade vendida	Receita (R\$)
Ovinos (cabeças)			
Caprinos (cabeças)			
Bovinos (cabeças)			
Outros animais (descrever)			
Frutas (kg)			
Grãos (kg)			
Leite vaca (litros)			
Leite de cabra (litros)			
Queijo (kg)			
Manteiga (kg)			
Couro e Pele (unidade)			
Outras atividades: Peixe (kg), Ovos (unidades), Mel (L), etc.			

Q21. Existe local de abate na fazenda para os animais? Sim ____ Não ____

Q22. Área é coberta? ____ Piso _____ Paredes revestidas ____ Área construída _____

Q23. Qual o destino das vendas (média dos últimos 12 meses)?

Produto	Quantidade vendida					
	Atravessador	Felrante	Consumidor	Fábrica ou laticínio	Outro (esp.)	Total
Ovinos (cabeças)						
Caprinos (cabeças)						
Bovinos (cabeças)						
Outros animais (descrever)						
Frutas (kg)						
Grãos (kg)						
Leite vaca (litros)						
Leite de cabra (litros)						
Queijo de cabra (kg)						
Queijo de vaca (kg)						
Doce de leite de vaca (kg)						
Doce de leite de cabra (kg)						
Manteiga (kg)						
Pelxe (kg)						
Mel (L)						

Ovos (dz)						
Pele (unidade)						
Couro (unidade)						
Outras atividades (descrever)						

Q24. Qual a destinação das vendas (média dos últimos 12 meses)?

Produto	Quantidade vendida					Total
	Abate	Cria ou recria	Reprodução	Outro (esp.)	Outro (esp.)	
Ovinos (cabeças)						
Caprinos (cabeças)						
Bovinos (cabeças)						
Outros animais (descrever)						

Q25. Quais as outras receitas da família?

Receita	Valor médio nos últimos 12 meses
1. Da fazenda	
Aluguel de terra	
Aluguel de animais	
Esterco	
Outras (especificar)	
Outras (especificar)	

2. Da família	
Aposentadoria	
Programas sociais do Governo	
Doação de parentes	
Venda de bens pessoais	
Venda com mão-de-obra para agricultura	

Q26. Indique o grau de dificuldade para comercializar sua produção, onde 1 significa nenhuma dificuldade ou até vantagem e 7 significa enorme dificuldade ou grande barreira:

Característica	1	2	3	4	5	6	7
Distância da propriedade do centro consumidor							
Acesso difícil a propriedade							
Ausência de meios de transporte							
Pequena escala de produção							
Aceltação do produto no mercado							

Q27. Indique o grau de dificuldade para desenvolver a atividade de caprino/ovino/cultor:

Característica	1	2	3	4	5	6	7
Preços dos produtos							
Preço dos insumos							
Custo da mão de obra							
Disponibilidade de mão de obra							
Acesso a tecnologias e assistência técnica							
Disponibilidade de financiamento							
Disponibilidade de matéria prima							

Q28. Quais os seus planos nos próximos 5 anos para a produção de caprinos/ovinos?

- a. Não tem planos
 b. Manter como está
 c. Aumentar o rebanho
 d. Reduzir o rebanho
 e. Diminuir o tempo de abate
 f. Adotar inovações para melhoria do estado sanitário do rebanho
 g. Se desfazer da propriedade
 h. Outros planos _____

Q29. Indique a instituição (projeto, se houver) e frequência que procura quando precisa de apoio para a solução de problemas como ovinocultor/caprinocultor:

Instituição	Frequência						
	Semanal	Mensal	1 a 3 m.	3 a 6 m.	6 m a 1 ano	Mais de 1 ano	Não procurou
Emater							
Prefeitura							
Sec. Agricul.							
Cooperativa							
Bancos							
Sindicatos							
Cons. Partic.							
Outros (esp)							

Q30. Qual o tipo de veículo utilizado para transporte de sua produção?

Próprio _____ Alugado _____ Maior parte próprio e parte alugado _____

Maior parte alugado e parte próprio _____ Outro (especificar) _____

PARTE V. PERFIL TECNOLÓGICO DA PRODUÇÃO DE OVINOS/CAPRINOS

Q31. Qual o objetivo principal da sua produção caprina?

Carne _____ Leite _____ Misto _____ Venda de matrizes _____ reprodutores _____

Q32. Qual o objetivo principal da sua produção ovina?

Carne _____ Leite _____ Misto _____ Venda de matrizes _____ reprodutores _____

Q33. Os caprinos/ovinos pastejam em áreas de outros proprietários?

- a. não
- b. Sim, em área alugada de _____ ha.
- c. Sim em área cedida de _____ ha.

Q34. O rebanho caprino/ovino é recolhido para abrigo?

- a. Nunca
- b. Sim, diariamente
- c. Sim, _____ vezes por _____

Q35. Separa matrizes antes de parir? _____ Separa an. por sexo? _____ E por idade? _____

Q36. Quanto tempo após o nascimento as crias são soltas com as matrizes? _____

Q37. Quantos partos simples _____, duplos _____ e triplos _____ ocorreram em 2011?

Q38. Para cada 10 caprinos/ovinos nascidos em 2005 quantos morreram ao nascer? _____
Quantos morreram até o desmame? _____

Q39. Qual o peso médio dos caprinos/ovinos colocados a venda? _____

Q40. Qual a idade média dos caprinos/ovinos à venda? _____

Q41. Qual a época de maior venda de caprinos/ovinos? _____

Q42. Quais métodos de cobertura ou práticas reprodutivas adota nos caprinos/ovinos?

- a. Inseminação artificial
- b. Monta natural controlada
- c. Monta natural não controlada
- d. Transferência de embriões
- e. Combinadas _____

Q43. No caso das alternativas a e b, descreva os critérios adotados para o acasalamento

Q44. Faz estação de monta? _____ Qual o período? _____

Q45. Se não faz estação de monta, quais os meses de maior frequência de monta?

Q46. Faz alguma anotação em relação ao rebanho?

Nenhuma _____ Reprodução _____ Produção _____ Número de animais _____
 Nascimento(s) _____ Contas (receita e despesa) _____ Outras: _____

Q47. Qual critério adota para realizar a primeira cobertura das fêmeas caprinas/ovinas:

- a. Nenhum
- b. Idade. Qual? _____
- c. Altura
- d. Peso

Q48. Castra os caprinos/ovinos machos?

- a. não
- b. aos dois meses de idade
- c. aos três meses
- d. aos quatro meses
- e. aos cinco meses

Q49. Com que frequência substitui o reprodutor caprino/ovino?

- a. uma vez por ano
- b. de dois em dois anos
- c. com mais de dois anos
- d. quando está muito velho
- e. quando morre

Q50. Quais as razões de descarte anual de reprodutores?

- a. idade
- b. defeitos
- c. não cobrir as fêmeas
- d. cobrir e não emprenhar
- e. animal problemático (pula cerca)
- f. cobrir as próprias filhas

Q51. Com quantos anos considera um reprodutor velho? _____

Q52. De onde vem a maioria dos reprodutores?

- a. compra sêmen de empr. comerc.
- b. compra em exposição
- c. adquire de rebanhos conh./viz.
- d. adquire em feiras de reb. desc.
- e. do próprio rebanho

Q53. Com que frequência substitui as matrizes caprinas/ovinas?

- a. uma vez por ano
- b. de dois em dois anos
- c. com mais de dois anos
- d. quando está muito velho

e. quando morre

Q54. Quais as razões de descarte anual de matrizes?

- | | |
|-----------------------------------|---|
| a. idade | d. pare mas não cria pelo menos uma/ano |
| b. defeitos | e. animal problemático (pula cerca) |
| c. não parir ao menos uma vez/ano | |

Q55. Com quantos anos considera uma matriz velha? _____

Q56. De onde vem a maioria das matrizes?

- | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| a. compra de empresas especializ. | d. adquire em feiras de reb. desc. |
| b. compra em exposição | e. do próprio rebanho |
| c. adquire de rebanhos conh./viz. | |

Q57. Descarta animais de outras categorias, a exceção de reprodutores e matrizes?

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| a. Não | d. Sim, com testículo muito pequeno |
| b. Sim, com queixo alongado | e. Sim, sem um testículo |
| c. Sim, com ausência de maxilar | |

Q58. Quais as raças de ovinos existentes na propriedade?

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| a. SRD | f. Bergamãcia |
| b. Morada Nova | g. Rabo largo |
| c. Santa Inês | h. Dorper |
| d. Crioulo lanado | i. Cruzadas/mestiças _____ |
| e. Somalis Brasileiro | j. Outra raça _____ |

Q59. Que raça de ovino pretende incorporar ao rebanho nos próximos 5 anos?

- a. Citar _____

Q60. Quais as raças de caprinos existentes na propriedade?

- | | |
|------------------|----------------------------|
| a. SRD | d. Boer |
| b. Saanen | e. Parda Alpina |
| c. Anglo-Nubiana | f. Cruzadas/mestiças _____ |

g. Outra raça _____

Q61. Que raça de caprino pretende incorporar ao rebanho nos próximos 5 anos?

b. Citar _____

Q62. Quais os principais problemas apresentados pelo rebanho?

	Nunca ocorreu	Eventual	Sazonal	Muito frequente
Linfadenite Caseosa				
Verminose				
Ectima contagioso				
Mal do casco				
Broncopneumonia				
Aborto				
Bichelra				
Diarreia				
Piolho				

Outras: _____

Q63. Aplica vacina no rebanho?

- a. Não
- b. Sim, de aftosa
- c. Sim, de raiva
- d. Sim, clostridioses
- e. Sim, outras _____

Q64. Combate as verminose?

- a. Não
- b. sim, uso vermifugo
- c. sim, faz rotação de pastos/caatinga
- d. sim, separa animais jovens e adultos
- e. Outras práticas _____

Q65. Se faz vermifugação:

Quantas vezes por ano? _____ Qual o produto que usa? _____

De quanto em quanto tempo troca o princípio ativo? _____
 Em todos as animais _____ Ou em parte deles _____

Q66. Quais os cuidados quando nasce um cabrito ou borrego?

- a. nenhum
- b. corte e desinfecção do umbigo
- c. deixa-o para mamar na mãe logo após o nascimento
- d. outros _____

Q67. Quais as medidas adotadas quando os animais aparecem com ferimentos superficiais como na boca ou nas tetas?

- a. nenhum
- b. limpa e trata
- c. Outras _____

Q68. Quais as medidas adotadas quando os animais aparecem com caroço (linfadenite caseosa - LC)?

- a. Não aparece (não existe ocorrência de LC no rebanho)
- b. Sarja o caroço e cura com iodo _____ Ou mata-bicheira _____
- c. Trata o caroço, depois que estoura
- d. Não trata (existe LC no rebanho, mas este não é tratado)
- e. Elimina os animais sempre que apresentam sintomatologia clínica
- f. Já eliminou alguns animais que apresentaram LC
- g. Outro (descreva) _____

Q69. É colocado cal na entrada dos bretes e/ou apriscos/chiqueiros no período invernososo?

- a. Não, não tem bretes, currais e chiqueiro
- b. Não, não coloca
- c. Coloca

Q70. Quando compra um animal de fora, utiliza algum procedimento de incorporação do mesmo ao rebanho?

- a. nenhum
- b. Quarentena, _____ dias
- c. vermífuga
- d. combate bicheiras/poihos

- e. solicita atestado/exames _____ g. outros _____
 f. vacina _____

Q71. Qual a frequência de limpeza das instalações de caprinos/ovinos por semana/mês/ano ou nunca faz? _____

Q72. O que faz com o esterco de caprinos/ovinos?

- a. Vende para terceiros
 b. Utiliza como adubo para forrageiras e outras culturas agrícolas
 c. Coloca em esterqueira própria, Qual é o tipo de esterqueira _____
 d. outros _____

Q73. Fornece ração concentrada aos animais? Sim _____ Não _____

Para que categoria animal? _____

Quais os meses em que fornece ração concentrada? _____

Qual o preço médio (emR\$/kg) pago pelo concentrado? _____

Q74. A composição da ração é diferente por categoria animal (concentrado)? _____

Explique: _____

Q75. É dado sal aos animais?

- a. não
 b. sim, sal comum (sal branco)
 c. sim, sal comum (branco) + microelementos (pacotinho)
 d. sim, sal mineral pronto comprado
 e. sim, sal comum + sal mineral misturado na propriedade

Q76. Quando?

Somente na est. chuvosa _____ Somente na est. seca _____ Durante todo o ano _____

Q77. Qual o tipo de animal que recebe sal?

- a. Somente para as crias _____ d. Outros _____
 b. Somente para as matrizes
 c. Para todo o rebanho

Q78. Os animais ficam em área de caatinga fechada:

- a. não
b. sim
- Q79. Quantas são as divisões de caatinga _____ Qual é a área média por piquete _____
- Q80. Rotaciona a área de pastejo dos animais com a de lavoura e/ou reserva?
a. não
b. sim, quais meses? _____
- Q81. Faz melhoramentos na caatinga?
a. não
b. raleamento
c. rebaixamento
d. enriquecimento
e. Adubação
f. Outros _____
- Q82. Quais meses do ano os animais acessam caatinga melhorada/natural? _____
- Q83. Faz algum tipo de reserva alimentar para o período seco?
a. Não Faz
b. Feno
c. Pasto diferido
d. Silagem
e. Restolho de cultura _____
f. Xique-xique/mandacaru/palma
g. Outros _____
- Q84. Qual a área utilizada para reserva alimentar? _____
- Q85. Além da reserva, existe outra fonte de alimento para a seca? _____
- Q86. Você considera que quantidade de alimentos disponíveis suficiente para os animais passarem o período seco sem perder peso/produção? _____
- Q87. Quais as épocas do ano que faz:
a. fenação _____
b. ensilagem _____
- Q88. Quais os pastos?
a. Capim _____
b. Restolhos de cultura
c. Leucena
d. Outro _____
- Q89. Qual o sistema de alimentação utilizado para a terminação (engorda) dos animais
a. Confinamento
b. Semi-confinamento
c. Somente pastagem
d. Outros _____
- Q90. Quais as práticas de preparo do solo que adota?

- a. Manualmente: Uso de enxada _____
- b. Tração animal: Aração _____ Gradagem _____ Sulcameto _____
- c. Tração motora: Aração _____ Gradagem _____ Sulcameto _____

Q91. Análise de solo:

- a. nunca fez
- b. já fez
- c. sempre faz

Q92. Já fez algum empréstimo em banco? Sim _____ Não _____

Custelo agrícola ___ Investimento ___ Custelo e Investimento ___ Outro _____

Em que situação se encontra? Quitado ___ Renegociando ___

Q93. A água que escorre no solo da sua propriedade durante as fortes chuvas é muito barrenta?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q94. A pastagem normalmente está bem formada antes da colocação de rebanhos para pastejo?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q95. Nas épocas de estagem há água suficiente em sua propriedade para consumo humano e animal?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q96. Tem havido perdas ou redução de produtividade das culturas por falta de água?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q97. Na sua propriedade são tomadas medidas para aproveitamento de água da chuva?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q98. Na sua propriedade são adotadas medidas para evitar o desperdício de água?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q99. É permitido o acesso sem controle do rebanho às aguadas existentes em sua propriedade?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q100. A prática de queimadas é adotada nas áreas agrícolas?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q101. Na sua propriedade são adotadas ações de replantio de espécies nativas para fins energéticos?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q102. Existe preservação da mata ciliar junto aos cursos de água e fontes da sua propriedade?

- a. não
- b. sim

Q103. As áreas de Reserva Legal e de Preservação Permanente são rigorosamente observadas em sua propriedade?

- a. não
- b. as vezes
- c. quase sempre
- d. sempre

Q104. A caça de animais silvestres protegidos por Lei é permitida na sua propriedade?

- a. não
- b. sim

Q105. Você tem observado alguma mudança climática ao longo dos anos na sua propriedade (mudanças na temperatura, no regime de chuvas, etc)?

- a. não
- b. sim, Qual o tipo de mudança? _____

PARTE VI. IRRIGAÇÃO

Q106. A propriedade apresenta alguma área de Irrigação?

- a. Não
- b. sim

Q107. Caso tenha área Irrigada, qual o tipo de pastagem?

- a. capineira para corte
- b. piquetes rotacionados
- c. banco prof. (leuc., guandu, gliric.)
- d. milho
- e. sorgo
- f. outros _____

Q108. Qual a fonte de água utilizada para Irrigação?

- a. açude
- b. cacimbão
- c. poço profundo
- d. rio
- e. outros _____

Q109. Qual o sistema de Irrigação utilizado na propriedade?

- a. aspersores
- b. canhão
- c. drenagem por declividade
- d. pivô
- e. outros _____

Q110. Quantos meses no ano realiza a Irrigação? _____ Quais meses _____

PARTE VII. IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

Q111. Realiza Identificação dos animais? Sim _____ Não _____

Q112. Qual o sistema de identificação utilizado?

- a. brinco
 b. tatuagem
 c. colar
 d. ferro quente
 e. assinalamento
 f. outros _____

PARTE VIII. REGISTRO GENEALÓGICO

Q113. Realiza registro genealógico dos animais? Sim _____ Não _____

Q114. Qual a entidade responsável pelo registro?

- a. ARCO
 b. ABCC
 c. Outra _____

PARTE IX. TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE

Q115. Quantos cães _____ e quantos gatos _____ domésticos existem na propriedade?

Q116. De que os gatos e os cães se alimentam?

Alimentos	Cães	Gatos
Ração		
Sobra de alimentos		
Leite		
Visceras de animais abatidos na propriedade		

Q117. Nesta área é comum a presença de cães _____ ou gatos _____ selvagens?

Q118. A água é oferecida aos caprinos e ovinos em:

	Caprinos	Ovinos
Vasilhames dentro das instalações		
Vasilhames fora da instalações		
Os caprinos e ovinos bebem direto na fonte		

Q119. A água oferecida aos caprinos e ovinos é proveniente de:

	Caprinos	Ovinos
Cacimba		
Açude		
Lagoa		
Poço Profundo		
Cistema		
Poço artesiano		
Rio		

Q120. Os cães e gatos (domést./selv.) têm acesso água oferecida aos caprinos e ovinos?

Cães

Gatos

Sim () Não () Às vezes ()

Sim () Não () Às vezes ()

Q121. Na propriedade existe alguma instalação utilizada para estocar alimentos destinados à suplementação de caprinos e ovinos?

Caprinos

Ovinos

Sim () Não ()

Sim () Não ()

Q122. Gatos e cães (domést./selv.) têm acesso a estas instalações?

Cães

Gatos

Sim () Não () Às vezes ()

Sim () Não () Às vezes ()

Q123. Já foi observado gatos e cães se alimentando de restos placentários?

Cães

Gatos

Sim () Não ()

Sim () Não ()

Q124. É feito algum controle da população de cães e gatos na propriedade?

Cães
Gatos

Sim () Não ()
Sim () Não ()

Q125. Se sim, qual?

TIPO DE CONTROLE	Cães	Gatos
Castração dos machos		
Ovariectomia		
Sacrifício dos recém-nascidos		
Doação dos recém-nascidos		
Controle hormonal		
Outro, qual?		

X. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Q126. Faz controle de doenças através de exames laboratoriais? Quais? _____

ANEXO B

Aprovação do Comitê de Ética



**Comissão de Ética no Uso de Animais –
CEUA / CNPC**

CERTIFICADO DE CREDENCIAMENTO E AUTORIZAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DE PROTOCOLO

Certificamos que o projeto intitulado "Caracterização zoonosológica da caprinocultura e ovinocultura no Brasil: epidemiologia, fatores de risco e impacto econômico das enfermidades", protocolo nº 010/2014, sob a responsabilidade do Dr. Antônio Cezar Rocha Cavalcante – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Caprinos e Ovinos (CEUA/CNPC), em reunião realizada em 26/06/2014.

Vigência do projeto	26/06/2014 a 31/07/2016
Espécie/linhagem	Capra hircus. Caprinos SRD / Ovis aries. Ovinos SRD
Número de animais	900
Peso/idade	20 a 80 kg de peso corporal / 0,5 a 8 anos de idade
Sexo	450 Machos e 450 Fêmeas
Origem	Rebanhos comerciais

Sobral, CE, 30 de julho de 2014.

Dr. Diego Barcelos Galvani
Coordenador da CEUA-CNPC

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Galvani", is written over a light blue horizontal line.

ANEXO C

Bula Kit de Elisa Indireto

**IMUNOTESTE® – NEOSPORA (ELISA) – OVINO**

Kit para Diagnóstico *in vitro* de *Neospora caninum* por Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA-TESTE)

USO VETERINÁRIO**DESCRIÇÃO DO PRODUTO:**

O kit detecta anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de ovinos, utilizando antígeno solúvel de *Neospora caninum* aderido aos orifícios das microplacas. Os soros ovinos (controle positivo, negativo e amostras-teste) são incubados nas microplacas sensibilizadas com o antígeno. Em seguida adiciona-se o conjugado anti-IgG de ovino (molécula total), seguido de lavagem e adição do substrato. Após incubação com o substrato, as amostras-teste positivas e controle positivo apresentam-se com coloração amarela, cuja densidade óptica é determinada pelo leitor de ELISA. O teste para detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* é rápido e fornece resultados de alta especificidade e sensibilidade.

COMPOSIÇÃO:

- a) 12 envelopes aluminizados, cada um contendo microplacas de poliestireno com 16 orifícios (cavidades/pocinhos) com antígeno total de *Neospora caninum*;
- b) 2 frascos de vidro com 1,2 mL de conjugado (anti-IgG de ovino) – DILUIR;
- c) 1 frasco de vidro com 1,4 mL de soro controle positivo – PRONTO PARA USO;
- d) 1 frasco de vidro com 1,4 mL de soro controle negativo – PRONTO PARA USO;
- e) 1 frasco plástico com 100 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) 20X concentrada – DILUIR;
- f) 1 frasco plástico com 15 mL de solução de parada da reação – PRONTO PARA USO;
- g) 1 frasco plástico com 25 mL de solução de substrato – PRONTO PARA USO;
- h) 1 frasco de vidro com 2 mL de Tween 20 – PRONTO PARA USO;
- i) 2 suportes plásticos para as microplacas;
- j) 2 cartões de resultados.

INDICAÇÃO:

Diagnóstico *in vitro* da Neosporose Ovína pelo Método de Ensaio Imunoenzimático Indireto.

ARMAZENAMENTO:

Armazenar as microplacas sensibilizadas, soros controle, conjugado, PBS 20X e solução de parada em temperatura entre 2° a 8° C. **Não congelar.** Aliquotar o substrato em volumes suficientes para cada microplaca, armazenando-o em frascos tipo âmbar ou tubos tipo eppendorf, envolvendo-os em papel aluminizado, protegendo-o da luz e mantendo-o em temperatura a - 20° C. O Tween 20 pode ser armazenado em temperatura ambiente. As microplacas são embaladas individualmente. Abrir somente a quantidade necessária no momento do uso.

Obs: O kit apresenta quantidade suficiente de reagentes para as reações de diagnóstico, mesmo se as microplacas forem processadas individualmente.

PRECAUÇÕES:

Em caso de presença de cristais no PBS 20X, recomenda-se aquecê-lo até a completa dissolução dos cristais para posterior diluição do tampão.

PREPARO DOS REAGENTES:**a. Soros controle:**

Os soros controle positivo e negativo estão PRONTOS PARA USO, ou seja, devem ser pipetados diretamente dos frascos para os orifícios das microplacas sensibilizadas. Recomenda-se colocá-los nos primeiros orifícios de cada microplaca.

b. Preparo do PBS-Tween 20:

Diluir 50 mL do PBS 20X em 950 mL de água destilada. Acrescentar 0,5 mL de Tween 20.

c. Amostras-teste:

As amostras-teste devem ser diluídas 1:50 em PBS-Tween 20, utilizando-se placa de ELISA não sensibilizada ou tubos tipo eppendorf e, posteriormente, transferidas para os orifícios das microplacas sensibilizadas com o antígeno, com auxílio de uma pipeta.

Utilize o cartão de resultado fornecido para anotar a localização dos soros controle e das amostras-teste.

Obs: Os orifícios H2, H4, H6, H8, H10 e H12 não contêm antígeno de *Neospora caninum*, servindo apenas para calibração do equipamento leitor de placa de ELISA. As microplacas sensibilizadas devem ficar perfeitamente encaixadas no suporte fornecido, para que os orifícios mencionados acima fiquem na posição correta no leitor de microplaca.

d. Preparo do conjugado (anti-IgG de ovino):

Para cada conjunto de microplaca (16 orifícios), diluir 200 µL de conjugado em 1,8 mL de PBS-Tween 20.

Obs: Preparar somente no momento do uso.

PROCEDIMENTO:

1. Retire as microplacas do refrigerador e deixe-as em temperatura ambiente por 5 a 10 minutos.
2. Adicione 100 µL dos soros controle positivo e negativo e 100 µL das amostras-teste diluídas nos respectivos pocinhos (orifícios), registrando-se a posição de cada um conforme marcação nas microplacas. Não adicionar nos orifícios H2, H4, H6, H8, H10 e H12.
3. Incube as microplacas por 1 hora em estufa a 37° C, em câmara úmida.
4. Lave as microplacas três vezes com PBS-Tween 20. Após a última lavagem, bater as microplacas sobre uma superfície plana, acolchoada com várias camadas de papel toalha. Secar bem. Não deixar bolhas dentro dos pocinhos.
5. Adicione 100 µL/pocinho do conjugado (anti-IgG de ovino) diluído. Não adicionar nos orifícios H2, H4, H6, H8, H10 e H12.
6. Incube as microplacas por 1 hora em estufa a 37° C, em câmara úmida.
7. Repetir o procedimento de lavagem e secagem das microplacas conforme item 4.
8. Adicione 100 µL/pocinho da solução de substrato. Não adicionar nos orifícios H2, H4, H6, H8, H10 e H12.
9. Envolver as microplacas em papel alumínio, incubando-as em temperatura ambiente de 30 a 45 minutos.
10. Adicione 50 µL/pocinho da solução de parada da reação. Não adicionar nos orifícios H2, H4, H6, H8, H10 e H12.
11. Faça a leitura das microplacas em leitor de microplaca de ELISA com filtro de 405 nm.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

- Calcular o Índice de Corte (I.C.)

O I.C. é a média da densidade óptica (D.O.) do soro controle negativo, multiplicada pelo fator 2,5.

- As amostras que apresentarem coloração amarela intensa e D.O. igual ou maior que o I.C., serão consideradas positivas para *Neospora caninum*.

- As amostras que não apresentarem coloração amarela intensa e D.O. menor que o I.C., serão consideradas negativas para *Neospora caninum*.

MODO DE CONSERVAÇÃO:

Vide armazenamento.

RESPONSÁVEL TÉCNICO:

Celio Raimundo Machado – CRMV/SP nº 2812

PROPRIETÁRIO E FABRICANTE:

Imunodot Diagnósticos Ltda.

Rua Dr. Mário de Campos, 1150 – Jardim São Marcos I

CEP: 14887-200 Jaboticabal/SP

CNPJ/MF nº 05.870.841/0001-73

Bula Kit de Imunofluorescência Indireta

IMUNOTESTE[®]
NEOSPORA (RIFI) - OVINO


Kit para Diagnóstico *in vitro* de *Neospora caninum* por Imunofluorescência Indireta

USO VETERINÁRIO

COMPOSIÇÃO:

- Lâmina com antígeno fixado (formol 2%) para o diagnóstico *in vitro* de *Neospora caninum*;
- Soro controle positivo;
- Soro controle negativo;
- Conjugado (anti-IgG de ovino) marcado com isotiocianato de fluoresceína;
- Solução salina tamponada com fosfato (PBS) 0,1M pH 7,2;
- Solução de glicerina tamponada com carbonato-bicarbonato 0,05M;
- Solução corante azul de Evans 2%.

APRESENTAÇÃO:

- a) 10 lâminas de vidro 25,4 X 76,2 mm, 1 mm de espessura, com 12 cavidades (delimitações circulares) de 5 mm Ø, contendo substrato antigênico de *Neospora caninum*, em envelope aluminizado;
- b) 1 frasco de vidro com 0,25 mL de soro controle positivo - PRONTO PARA USO;
- c) 1 frasco de vidro com 0,25 mL de soro controle negativo - PRONTO PARA USO;
- d) 1 frasco de vidro com 1,5 mL de conjugado (anti-IgG de ovino);
- e) 1 frasco plástico com 100 mL de solução salina tamponada (PBS) 10X concentrada;
- f) 1 frasco de vidro com 3 mL de glicerina tamponada - PRONTO PARA USO;
- g) 1 frasco de vidro com 3 mL de azul de Evans - PRONTO PARA USO.

INDICAÇÃO:

Diagnóstico *in vitro* da Neosporose Ovina pelo Método de Reação de Imunofluorescência Indireta.

PREPARAÇÃO DE REAGENTES:

- Conjugado

Pipetar 140 µL do conjugado em tubos tipo eppendorf e acrescentar 14 µL de solução de azul de Evans. Envolver o frasco em papel alumínio para proteger da luz. A solução está pronta para uso e é suficiente para as 12 cavidades de uma lâmina.

- Solução salina tamponada (PBS) 1X concentrada

Diluir o PBS 10X concentrado (ex. 10 mL de PBS 10X concentrado + 90 mL de água destilada ou deionizada).

- Soros teste

Centrifugar os soros teste a 5.000 rpm durante 15 minutos, em temperatura ambiente. Diluir o soro centrifugado, partindo-se da diluição inicial de 1:50 (ex. 1 µL de soro + 49 µL do PBS 1X concentrado).

PROCEDIMENTO:

1. Retire as lâminas do refrigerador e deixe-as secar em temperatura ambiente por 10 a 15 minutos;
2. Adicione 10 µL do soro controle negativo na cavidade de número 6 da lâmina e 10 µL do soro controle positivo na cavidade 7;
3. Adicione 10 µL dos soros teste diluídos nas cavidades restantes, registrando-se a posição de cada uma conforme a marcação na lâmina;
4. Incube as lâminas por 30 minutos em estufa a 37°C, em câmara úmida;
5. Utilizando cuba de vidro, lave as lâminas três vezes em PBS 1X concentrado, 5 minutos em cada lavada;
6. Adicione 10 µL do conjugado diluído em azul de Evans;
7. Incube as lâminas por 30 minutos em estufa a 37°C, em câmara úmida;
8. Utilizando cuba de vidro, lave as lâminas três vezes em PBS 1X concentrado, 5 minutos em cada lavada;
9. Monte as lâminas com lamínula e glicerina tamponada, e faça a leitura em microscópio equipado para leitura de imunofluorescência, usando objetiva de 40 X.

Observação: Após a montagem, proteja as lâminas da exposição à luz e faça a leitura em seguida.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

1. Reação positiva: os parasitas apresentarão fluorescência esverdeada distribuída por toda a sua superfície.
2. Reação negativa: não haverá fluorescência e o campo aparecerá escuro.

MODO DE CONSERVAÇÃO:

Conservar em temperatura entre 2 – 8°C.