

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

ELIZETE DE OLIVEIRA

**Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muares e
asininos na região Nordeste do Brasil**

RECIFE

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

ELIZETE DE OLIVEIRA

**Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muares e
asininos na região Nordeste do Brasil**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE

2012

Ficha catalográfica

O48p Oliveira, Elizete de
Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muare
e asininos na região Nordeste do Brasil / Elizete de Oliveira. –
Recife, 2012.
54 f. : il.

Orientador: Rinaldo Aparecido Mota
Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2012.
Inclui referências e anexo.

1. *Toxoplasma gondii* 2. Equídeos 3. Sorologia
4. Epidemiologia I. Mota, Rinaldo Aparecido, orientador
II. Título

CDD 636.089

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muare e asininos na
região Nordeste do Brasil**

Dissertação de Mestrado elaborada por

ELIZETE DE OLIVEIRA

Aprovada em 20/04/2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota – Orientador
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Profa. Dra. Andréa Alice da Fonseca Oliveira
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

Dedico ao meu pai Manoel Laurindo de Oliveira e
minha mãe Rosa Maria de Oliveira pelo
imenso amor, pelo incentivo aos estudos e
fonte de inspiração para agir com
serenidade.

AGRADECIMENTOS

O primeiro e grande agradecimento é ao Pai, ao Criador, a Deus que em sua infinita bondade me concedeu o dom da vida. Todas as suas criações que tenho podido conviver nesta existência: nosso planeta com as pessoas, as plantas e os animais; a belíssima natureza com os rios, mares, ah! Obrigada Pai pela água, pelo sol e por todos os outros recursos naturais que temos neste mundo. Que todos nós possamos ser infinitamente gratos por tudo que recebemos e que saibamos preservar sempre para as futuras gerações...

Agradeço de todo coração a minha família, principalmente meu pai Manoel Laurindo e minha mãe Rosa Maria, que na simplicidade de seres que tem a sabedoria da vida não precisaram títulos acadêmicos para ser por mim considerados e admirados como meus "mestres e doutores". Sempre me incentivaram nos estudos e sempre me apoiaram, mesmo à distância. Amo vocês!

Ao meu irmão Ednaldo e minha irmã Edna e cunhado Orlando, pois desde a época da faculdade, e já faz alguns anos, me ajudaram e estiveram torcendo por mim na minha jornada de estudo e trabalho.

Obrigada meu amor, companheiro, meu esposo Antonio Simião. Você que tem me apoiado nesse e em todos os projetos que construímos juntos. Saiba que sem você tudo seria muito mais difícil de ser realizado! Obrigada pelo seu entusiasmo, otimismo e boa energia que sempre me revigora. Amo-te muito.

Agradeço minhas queridas filhas Soraia e Maria Alice pela paciência e compreensão em ficar sem a mamãe nas horas em que precisei me ausentar para estudar. Saibam que estaremos cada vez mais unidas a cada dia que passa, pois o amor só aumenta a cada instante de convivência com vocês.

Muito obrigada ao meu querido e admirado orientador Prof. Rinaldo Mota, pela confiança e ajuda na dissertação e por me inspirar com sua dedicação e paciência que são apenas algumas de suas inúmeras virtudes. Sei que a cada

semestre somos alguns privilegiados que recebemos seu carinho como orientados, obrigada mesmo por me aceitar. Obrigada por desempenhar com tanta nobreza sua função como mestre e orientador; saiba que o mundo fica melhor com pessoas como você!

Aos professores e colegas do curso de mestrado em Biociência Animal, em especial ao Prof. Fabrício e a amiga Taciana.

Quero agradecer ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o laboratório LANAGRO-PE por ter cedido as amostras, na pessoa da Coordenadora e da chefe do setor de Bacteriologia Dra. Vânia Lúcia. Agradeço também pela oportunidade e compreensão para que pudesse conciliar o trabalho com os estudos.

Minhas queridas amigas e também fontes de inspiração Marcília, Marta e Eva se não fossem vocês eu não teria iniciado este desafio que foi voltar a Universidade após tantos anos de formada. Obrigada minhas "meninas", colegas de mestrado e grandes apoiadoras durante o curso.

Também agradeço a minha amiga Andréa pelo apoio e ajuda na organização das amostras e planilhas.

Obrigada aos colaboradores Luis e Solange, as estagiárias Cecília e Bruna do setor de Bacteriologia do LANAGRO-PE por também fazerem parte da nossa equipe de trabalho.

Eduardo Faria obrigada pela ajuda no processamento das amostras; agradeço também os estagiários Bruno e a residente Acidália que também colaboraram e foram fundamentais na realização do projeto no laboratório de Bacterioses na UFRPE. Obrigadão Prof. Dr. Wilton Junior pela orientação na organização dos dados e análise estatística e pelo seu incentivo e apoio.

Agradeço a todos que colaboraram para que esse projeto se concretizasse.

Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante.

Albert Schweitzer

RESUMO

Objetivou-se com este estudo pesquisar anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de muares e asininos criados na região Nordeste do Brasil. Foram utilizadas 483 amostras (395 muares e 88 asininos) procedentes de quatro estados da região Nordeste do Brasil (Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe). Para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi utilizada a técnica da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com ponto de corte 64. Foram observadas frequências de 23,8% e 43,2% de positividade para muares e asininos, respectivamente. O estado de Pernambuco apresentou a maior frequência de amostras positivas (29,2%), observando-se diferença estatística significativa quanto à espécie ($p < 0,001$) e estado ($p = 0,048$). Este estudo é pioneiro no que se refere à pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em muares e asininos nos estados estudados e serve de alerta às autoridades sanitárias para o risco de ingestão de carne de equídeos.

Palavras chaves: *Toxoplasma gondii*, equídeos, sorologia, epidemiologia.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in sera from donkeys and mules raised in the Northeast of Brazil. We used 483 samples (395 mules and 88 donkeys) from four states in Northeastern Brazil (Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba and Sergipe). For the detection of anti-*Toxoplasma gondii* was used the technique of Indirect Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) with a cut off 64. Observed frequencies of 23.8% and 43.2% positivity for mules and donkeys, respectively. The state of Pernambuco had the highest frequency of positive samples (29.2%). There was a statistically significant difference in relation to specie ($p < 0.001$) and state ($p = 0.048$). This study is the pioneer in notifying the occurrence of anti-*T. gondii* antibodies in mules and donkeys in the studied States. And it must be considered as an essential alert to the responsible health authorities regarding the eminent risk of equine meat ingestion.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, mules and donkeys, serology, epidemiology

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 2.1. ETIOLOGIA E CICLO BIOLÓGICO | 16 |
| 2.2. EPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE EM EQUÍDEOS | 20 |
| 2.3. SINAIS CLÍNICOS | 24 |
| 2.4. DIAGNÓSTICO | 24 |
| 2.5. CONTROLE E PROFILAXIA | 26 |
| 3. OBJETIVOS | 27 |
| 3.1. GERAL | 27 |
| 3.2. ESPECÍFICOS | 27 |
| REFERÊNCIAS | 28 |
| 4. ARTIGO CIENTÍFICO | |
| 4.1. ARTIGO - Ocorrência de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em muares e asininos na região Nordeste do Brasil | 34 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 54 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* 18
- Figura 2** - Taquizoítos e cistos teciduais do *Toxoplasma gondii* 19

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Frequência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em muares e asininos na região Nordeste do Brasil, 2012. | 45 |
| Tabela 2 - Frequência dos títulos de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> detectados na RIFI em muares e asininos na região Nordeste do Brasil, 2012. | 46 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|----------------------|--|
| °C | Grau Celsius |
| µL | Microlitro |
| % | Porcentagem |
| ® | Marca registrada |
| < | Menor |
| DAT | Teste de Aglutinação Direta |
| ELISA | Ensaio Imunoenzimático (do inglês: Enzyme Linked Immunosorbent Assay) |
| et al. | Autores colaboradores (original do latim: “e os outros”) |
| F.A. | Frequência absoluta |
| F.R. | Frequência relativa |
| <i>F. domesticus</i> | <i>Felis domesticus</i> |
| HAI | Hemaglutinação Indireta |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IFAT | Imunofluorescência Indireta |
| IgG | Imunoglobulina classe G |
| Km | Quilômetro |
| LANAGRO-PE | Laboratório Nacional Agropecuário de Pernambuco |
| LAT | Teste de Aglutinação em Látex |
| MAD | Teste de Aglutinação Direta Modificado |
| MG | Minas Gerais |
| MAT | Teste de Aglutinação Modificada |
| PBS | Tampão Fosfato-salino |
| PCR | Reação em Cadeia de Polimerase |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| Psi | Puro Sangue Inglês |
| RIFI | Reação de Imunofluorescência Indireta |
| <i>T. gondii</i> | <i>Toxoplasma gondii</i> |
| SP | São Paulo |
| spp | Várias espécies |
| UFRPE | Universidade Federal Rural de Pernambuco |

1. INTRODUÇÃO

O efetivo de asininos no Brasil em 2010 era de 1.002 milhão de cabeças. Quase a totalidade (90,52%) encontrava-se na região Nordeste. A Bahia apresentou 29,94% do total do Nordeste, o Ceará 21,45%, Piauí 13,57%, Pernambuco 10,11%, Rio Grande do Norte 5,91%, Paraíba 4,82% e Sergipe 1,36% (IBGE, 2010).

Os muares foram estimados em 1.277 milhão de cabeças no Brasil e concentravam-se na região Nordeste (49,13%). A Bahia apresentou 46,16% do rebanho do nordeste, o Ceará 12,87%, Pernambuco 8,04%, Piauí 4,71%, Paraíba 3,54%, Rio Grande do Norte 3,30% e Sergipe 2,93% (IBGE, 2010).

O cavalo (*Equus caballus*) possui 64 cromossomos, enquanto que o jumento (*Equus asinus*) possui 62. O resultado do cruzamento da égua com o jumento são os muares (*Equus mullus*) que apresentam 63 cromossomos e são quase sempre estéreis. São raros os casos em que uma mula esteve prenha e desde 1527, data em que os casos começaram a ser arquivados, apenas 60 casos foram registrados (VIEIRA, 2008).

Os muares são utilizados desde o Brasil Império, servindo de montaria para se deslocar em viagens distantes, podendo cumprir etapas diárias de até 40 km, sem esgotar-se. Sobre o lombo dos resistentes muares, transportavam-se alimentos, mercadorias diversas e, até mesmo armas e munições (OLIVEIRA et al., 2007). Os muares ainda são de grande utilidade, desde a coleta de materiais recicláveis nas cidades, no transporte de forrageiras, na retirada de areia em rios, no transporte de materiais de construção, transporte na agricultura familiar e no ecoturismo. Ainda são utilizados nas cavalgadas e nos concursos de marchas na região Sudeste, onde esses animais têm uma valorização comercial acentuada (GOULART, 1998).

Na região Nordeste do Brasil, os muares são muito utilizados nas usinas de cana-de-açúcar (VASCONCELOS, 1988). Já os jumentos estão sendo gradativamente substituídos por motos e bicicletas, ficando abandonados nas estradas e provocando acidentes (LEITÃO, 2008).

Não há evidência definitiva que *T. gondii* cause doença clínica em cavalos (DUBEY et al., 1999), entretanto bradizoítos do parasito já foram identificados no tecido muscular de cavalos saudáveis. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* também já foram descritos no soro de cavalos e muares clinicamente sadios em diversos países (DUBEY, 2010).

No Brasil são poucos os estudos relacionados com a pesquisa de anticorpos em muares e asininos, destacando-se na região Nordeste o trabalho realizado por Mendonça et al. (2001) que realizaram um inquérito sorológico em soros de equídeos no estado da Bahia.

Objetivou-se com este estudo realizar a detecção de anticorpos anti-*T.gondii* em soros de asininos e muares dos estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe com a finalidade de contribuir com dados epidemiológicos para essas espécies na região Nordeste do Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nicolle e Manceaux (1908) diagnosticaram pela primeira vez o *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) em tecidos de um roedor silvestre (*Ctenodactylus gundi*) usado para pesquisa sobre Leishmaniose no Laboratório Charles Nicolle, Instituto Pasteur, na Tunísia. Nicolle acreditou inicialmente que o parasito era um piroplasma (AJIOTA; SOLDATI, 2007) e depois acreditou se tratar de Leishmania, mas logo percebeu que havia descoberto um novo microorganismo e o denominou de *Toxoplasma gondii* baseado na sua morfologia e hospedeiro. Também em 1908, Splendori descobriu o mesmo parasito em coelho no Brasil, mas o identificou como Leishmania (DUBEY, 2008). Historicamente, *T. gondii* originou-se provavelmente como um coccídeo parasito de gatos com ciclo de vida fecal-oral. Com a domesticação dos felídeos ele se adaptou à transmissão em vários modelos, incluindo a transmissão por carnivorismo e transplacentária (DUBEY, 2010).

2.1. ETIOLOGIA E CICLO BIOLÓGICO

T. gondii é um dos parasitos mais estudados no mundo devido a sua importância médica e veterinária. Este protozoário pertence ao Filo *Apicomplexa* ; Classe *Sporozoa* ; Subclasse *Coccidiasina* ; Ordem *Eimeriorina* ; Família *Toxoplasmatidae* ; Gênero *Toxoplasma* , existindo apenas uma espécie de *Toxoplasma*, *T. gondii* (DUBEY, 2010). Possui três genótipos predominantes: tipo I, II e III classificados de acordo com a virulência em camundongos, dividindo-se em virulentos e avirulentos (DARDÉ et al., 1992; JOHNSON, 1997), apesar de que segundo Dubey (2008) não existe cepa não patogênica de *T. gondii* e a virulência em camundongos poderia não ter relevância clínica com respeito à doença em humanos e animais de pecuária.

O parasito é obrigatoriamente intracelular e móvel, invade as células nucleadas e multiplica-se por divisão binária simples e endodiogenia sob as formas de taquizoítos (forma de multiplicação rápida), bradizoítos (forma de multiplicação lenta) no interior de cistos teciduais e esporozoítos presentes nos oocistos esporulados (MEIRELES et al., 2003).

O ciclo biológico (Figura 1) é constituído de duas fases: uma sexuada (enteroepitelial) e a outra assexuada (extraintestinal). A fase enteroepitelial se desenvolve exclusivamente no epitélio intestinal dos felídeos (hospedeiros definitivos). Inicia-se pela ingestão dos cistos presentes na musculatura do hospedeiro intermediário (felídeos silvestres em zoológicos podem ingerir animais de produção, incluindo os equídeos). Em seguida, a parede do cisto é dissolvida por enzimas proteolíticas no estômago e intestino delgado e o parasito é liberado, penetra nos enterócitos da mucosa intestinal e multiplica-se dando origem a várias gerações através da reprodução assexuada. Após cinco dias da infecção, inicia-se o processo de reprodução sexuada, em que os merozoítos formados na reprodução assexuada dão origem aos gametas. O gameta masculino (microgameta) e feminino (macrogameta) se fundem dando origem ao ovo ou zigoto, que após se unir à parede cística dá origem ao oocisto. Este é expulso nas fezes após nove dias (cada gato expulsa mais de 500 milhões de oocistos em cada defecação) e esporulam no ambiente transformando-se em esporozoítos infectantes através de divisão meiótica (esporulação). Após alguns dias são formados dois esporocistos elipsoidais cada um com quatro esporozoítos (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY, 1994). Esta forma é altamente resistente a desinfetantes e pode permanecer viável por cinco anos em condições adequadas de ambiente em uma temperatura de -20°C a 37°C , desde que não exposto à luz solar direta e em condições razoáveis de umidade relativa (DUBEY; FRENKEL, 1972; AZEVEDO et al., 1983). A descoberta do oocisto como forma de resistência no ambiente tornou possível explicar a alta prevalência mundial da toxoplasmose (DUBEY, 2009).

O ciclo extraintestinal ocorre em todas as espécies de sangue quente, incluindo os equídeos e o gato, sendo este último conhecido como hospedeiro completo ou definitivo (VERONESI; FOCACCIA, 1996). As formas de transmissão citadas na literatura para os hospedeiros intermediários são a adquirida e a congênita. No primeiro caso, o animal se infecta pela via oral por meio da ingestão do oocisto esporulado presente nas fezes dos gatos e que contaminam os alimentos e água. Na transmissão congênita, as fêmeas se infectam durante a gestação e transmitem o parasito via transplacentária aos fetos. Os oocistos esporulados são ativados em taquizoítos, também conhecidos como forma livre ou

trofozoíto. Quando ingeridos pelo hospedeiro intermediário multiplicam-se por mitose, principalmente nos macrófagos, células musculares e cerebrais. Os taquizoítos na circulação sanguínea e linfática atingem todos os órgãos e tecidos dos hospedeiros (WONG; REMINGTON, 1993). Após ruptura da célula, os parasitos invadem novas células. Nesta fase, o sistema imunológico é ativado e destrói todos os parasitos livres, contudo não detecta aqueles que encistaram. Este estágio do parasito apresenta forma de arco com uma extremidade afilada e outra arredondada e constitui a forma menos resistente do parasito, sendo facilmente destruído pelas condições adversas do meio, suco gástrico, desidratação ou variações osmóticas (NEVES, 1985; BARRAGAN; SIBLEY, 2003).

O parasito é capaz de cruzar a barreira epitelial do intestino e se disseminar para o organismo, localizando-se nos músculos, placenta, cérebro e olhos. A transmigração através das células epiteliais polarizadas está altamente associada ao genótipo e virulência do parasito (BARRAGAN; SIBLEY, 2002).

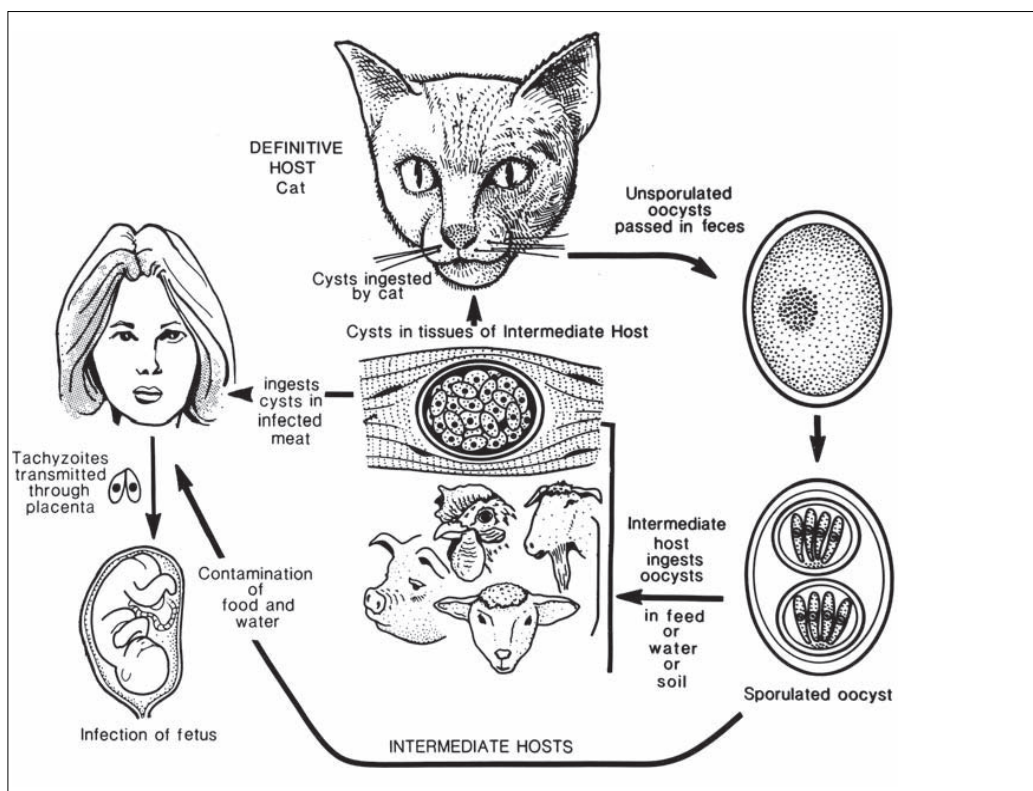


Figura 1 – Ciclo de Vida do *Toxoplasma gondii*

Fonte: Dubey (2010).

Nos gatos domésticos, anticorpos anti-*T. gondii* podem ser detectados em aproximadamente 74% da população dos animais adultos, dependendo do tipo de alimentação e do tipo de criação (TENTER et al., 2000). Menos de 50% dos gatos eliminam oocistos após a ingestão de taquizoítos ou oocistos, enquanto que quase todos eliminam oocistos após a ingestão de cisto tecidual. *T. gondii* é adaptado para ser transmitido biologicamente por carnivorismo em gatos e a transmissão por oocistos é mais eficiente em hospedeiros não felídeos (DUBEY, 2009).

O desenvolvimento de cistos tissulares em vários locais do corpo define a fase crônica do ciclo assexuado (Figura 2). Estes são encontrados principalmente no sistema nervoso central e no tecido muscular, esquelético e cardíaco, onde podem permanecer por toda a vida do hospedeiro sem causar resposta inflamatória (SOUZA, 2010).

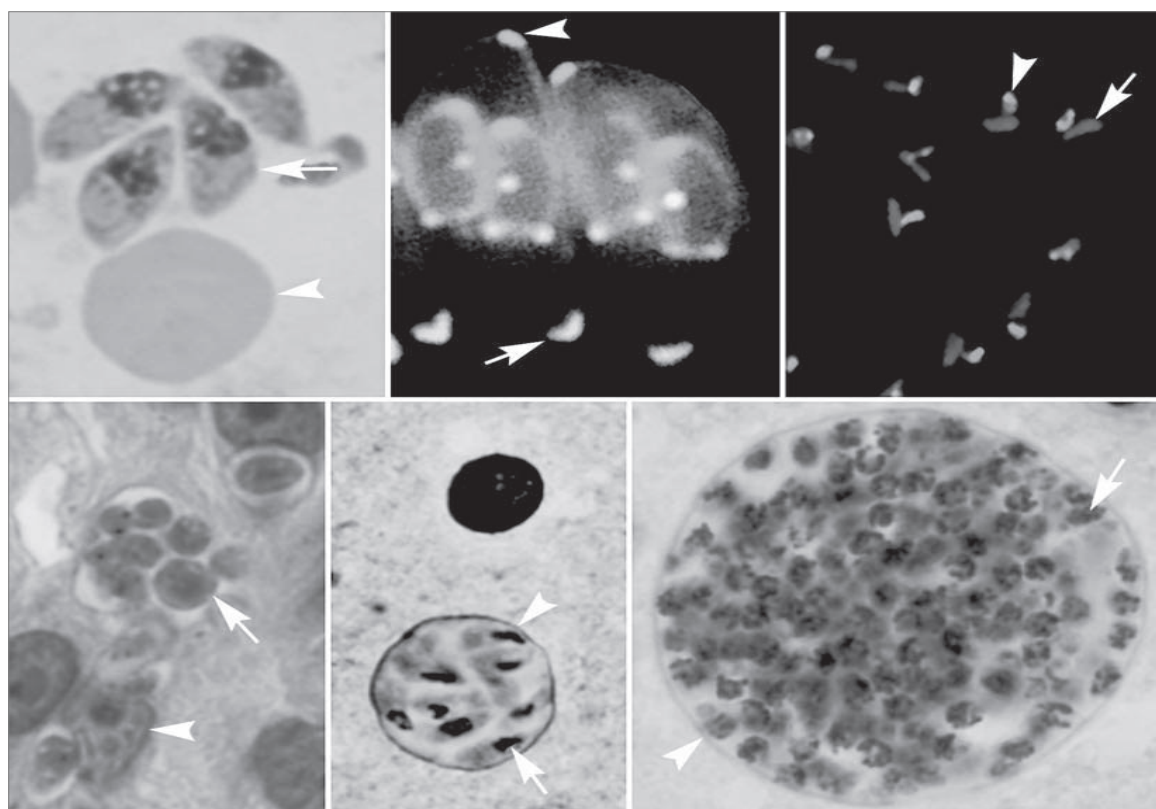


Figura 2 - Taquizoítos e cistos teciduais do *T. gondii*. Fotos superiores e 1º foto inferior à esquerda: taquizoítos individuais e em divisão intracelular; foto inferior ao centro e à direita: cistos em diferentes estágios de formação.

Fonte: Dubey (2010).

A resposta imune frente à infecção por *T. gondii* varia consideravelmente dependendo da apresentação clínica da doença. Resposta imune local e sistêmica pode variar entre indivíduos, dependendo fortemente da base genética e do estado imunológico do hospedeiro (MUNOZ et al., 2011).

T. gondii induz uma resposta imune consistente e duradoura para controlar a proliferação dos taquizoítos. A resposta imune inata, representada por macrófagos, células "natural killer" (NK) e polimorfonucleares atuam na primeira linha de defesa do organismo. Esses eventos atuam como primeira linha de defesa na resistência à infecção pelo *T. gondii* antes do desenvolvimento da resposta imune adquirida mediada por células T. A imunidade celular, mediada pelos linfócitos T, atua como mecanismo de defesa contra microorganismos que sobrevivem dentro de fagócitos ou células não-fagocíticas infectadas, onde estão protegidas dos anticorpos (MUNOZ et al., 2011).

Como parasito intracelular obrigatório, a imunidade mediada por células é a principal defesa do hospedeiro contra a infecção pelo *T. gondii*. A infecção estimula também a produção de anticorpos IgG, IgM, IgA e IgE que, além de serem utilizados para o diagnóstico da infecção pelo parasito, contribuem na primeira barreira de defesa. Os títulos se mantêm altos, durante meses a anos. Para detectar uma infecção recente é necessário verificar um aumento contínuo dos títulos por um período de duas a quatro semanas. Taquizoítos extracelulares cobertos pelos anticorpos e complemento podem ser lisados pela via clássica do complemento ou destruídos dentro dos fagócitos. Esses mecanismos, no entanto, não oferecem proteção contra os parasitos vivos que estão no interior das células. Anticorpos como IgA também podem interferir na interação inicial do parasito com a célula do hospedeiro nas membranas mucosas (CORDEIRO et al., 2010).

2.2 EPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE EM EQUÍDEOS

As principais vias de transmissão do *T. gondii* para os herbívoros são a ingestão de águas e alimentos (pastagens, ração, feno) contaminados com oocistos esporulados eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos (MODOLO

et al., 2008). Os oocistos são eliminados no local de exploração dos animais ou são transportados mecanicamente pelo vento, insetos, minhocas, baratas, pássaros e outros vetores (LUZON et al., 1997). Os fatores de risco são representados pela presença de gatos, tipo de alimentação e manejo dos animais, características do ambiente de origem dos animais; por exemplo, áreas úmidas e quentes que favorecem a sobrevivência de oocistos no meio ambiente (GUIMARÃES et al., 1999; AMENDOEIRA et al., 2003).

A prevalência da infecção por *T. gondii* em equinos geralmente é baixa (DUBEY et al., 1999) e desta forma alguns autores consideram que o risco de contrair a infecção por meio da ingestão da carne desses animais não teria uma importância epidemiológica significativa. No entanto, a carne dos equídeos pode veicular cistos de *T. gondii*, o que representaria riscos para a Saúde Pública em regiões onde é habitual o seu consumo (MENDONÇA et al., 2001).

Pomares et al. (2011) descreveram três casos de toxoplasmose humana que culminaram com óbito dos pacientes na França, causados por cepas atípicas provavelmente adquiridas pela ingestão de carne equina crua importada do Canadá e Brasil. Além disso, a carne de equídeos constitui uma importante via de transmissão do parasito para animais de zoológicos que são alimentados com este tipo de carne, em especial os felídeos silvestres, que são os hospedeiros definitivos do agente, podendo eliminá-lo no meio ambiente por meio das fezes (MENDONÇA et al., 2001).

Embora praticamente todos os animais de produção possam ser considerados fontes de infecção do *T. gondii* para humanos, espécies diferentes podem desempenhar um papel similar, de acordo com diferenças geográficas, epidemiológicas e de comportamento alimentar (TENTER et al., 2000).

Durante as últimas décadas poucas foram as tentativas feitas no sentido de isolar *T. gondii* em cavalos naturalmente infectados. Devido às escassas informações sobre este assunto não é possível quantificar ou mesmo estimar valores aproximados da prevalência da infecção por *T. gondii* na população de equinos no mundo (TASSI, 2007).

A análise de 240 amostras de soro de cavalos de esporte do Cairo, Egito, pelas técnicas de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), Teste de Aglutinação

em Látex (LAT), Teste de Aglutinação Modificada (MAT) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) revelaram que 129 (53,8%), 125 (52,1%), 122 (50,8%) e 94 (39,2%) apresentaram reação positiva para *T. gondii* respectivamente (SHAAPAN et al., 2012).

Amostras de soros de 315 cavalos da Costa Rica foram examinadas quanto à presença de anticorpos contra *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii*. Anticorpos anti- *T. gondii* foram encontrados em 34% dos cavalos estudados no teste de Aglutinação Modificada (ponto de corte 25) (DANGOUDOUBIYAM et al., 2011).

ELISA foi utilizado para estudar a prevalência de *Toxoplasma gondii* em asininos de trabalho criados na região da grande Cairo, Egito. Os asininos eram 75 fêmeas e 25 machos com idade entre 3-10 anos. Os resultados mostraram que foram encontrados anticorpos contra *T. gondii* em 45 dos 100 (45%) asininos estudados. Das amostras de leite de asininos obtidas de 15 fêmeas prenhas, sete delas (46,3%) foram positivas (HARIDY et al., 2010).

Shaapan et al. (2008) examinaram 200 amostras de soro de asininos abatidos no Cairo, Egito pela técnica MAT. O resultado revelou que 89 (44,5%), 104 (52%), 72 (36%) e 78 (39%) apresentaram anticorpos contra *T. gondii*, utilizando como antígenos: RH, isolados de equino, camelo e ovelha, respectivamente.

Um inquérito sorológico de *Toxoplasma gondii* foi realizado utilizando o teste de ELISA em 121 soros de asininos adultos da Província de Monofia, Egito. Anticorpos anti-*T. gondii* foram encontrados em 65,5% dos 121 asininos (EL-GHAYSH, 1998).

A prevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em cavalos de esporte de Qazvin, Irã foi avaliada pelo MAT. Dos 52 soros examinados, 37 (71,2%) foram positivos (HAJIALILO et al., 2010).

Soros de 773 equídeos incluindo 753 cavalos, 13 burros e sete pôneis provenientes de quatro regiões da Grécia foram investigados pela técnica de ELISA para a presença de anticorpos IgG contra *T. gondii*. Anticorpos foram detectados em todas as regiões com uma prevalência geral de 1,8% (KOUAM et al., 2010).

Soros de 100 cavalos clinicamente saudáveis da Província de Ancara, Turquia foram testados quanto à presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* utilizando o teste de Sabin-Feldman e foi encontrada uma soropositividade de 28%. A distribuição da soropositividade entre as diluições mostrou que 23 amostras foram positivas na diluição de 1:16 (82,1%) e cinco amostras positivas em 1:64 (17,8%) (GÜÇLÜ et al., 2007).

Dubey et al. (1999) examinaram soros de 1788 cavalos de abate para consumo na América do Norte para a pesquisa de anticorpos contra *T. gondii* no Teste da Aglutinação Modificada. Anticorpos foram encontrados em 124 (6,9%) das amostras estudadas. Um total de 339 cavalos selecionados também foi testado pelo Sabin-Feldman Dye Test. Anticorpos foram encontrados em 54 cavalos com títulos de 10 (29 cavalos), 20 (12 cavalos), 40 (4 cavalos) e 80 (9 cavalos).

Estudo realizado com 398 amostras de soro de equinos abatidos em dois frigoríficos com Serviço de Inspeção Federal em animais provenientes de seis estados brasileiros pela RIFI (ponto de corte 64) foram observadas 46 (11,6%) amostras positivas (RIZZO, 2011).

Villalobos et al. (2010) estudaram a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*Neospora* spp. em soros de jumentos criados no Pólo Regional da Alta Mogiana, Colina, SP. Foram analisadas 85 amostras pela técnica de RIFI onde foram observadas 9,4% (8/85) dos animais positivos. Em Botucatu, SP, foram analisadas 253 amostras de soros de equinos. O resultado mostrou que se considerando como ponto de corte o título 16, 32 delas (12,6%) foram positivas no Teste de Aglutinação Direta Modificado (MAD) e 15 (5,9%) positivas na RIFI. Em relação aos títulos obtidos, o maior foi 256 (uma amostra); 19 amostras apresentaram título 16 e 12 apresentaram título 64 na MAD. Na RIFI, o título mais frequente foi 16 (14 amostras) e o maior título foi 64 (uma amostra) (CAMOSSO et al., 2010).

Um estudo foi realizado em Eldorado, Mato Grosso do Sul, para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equídeos pelo método MAD (ponto de corte ≥ 25). A frequência de animais positivos ao teste foi de 60,87% (14/23) (MARQUES et al., 2009). Um estudo foi realizado com 150 soros de cavalos do Pantanal,

utilizando a Hemaglutinação Indireta. Somente duas amostras (1,33%) foram positivas para *Toxoplasma gondii* (SILVA, 2005).

Outro estudo realizado em Uberlândia, MG, utilizando 117 amostras de soros de equinos da raça Mangalarga Marchador foram analisadas pela RIFI para pesquisa de anticorpos contra *T. gondii*. O resultado obtido revelou uma prevalência de 12,82% (NAVES et al., 2005).

2.3 SINAIS CLÍNICOS

Dubey (2010) relata que não existem na literatura casos confirmados de toxoplasmose clínica em equinos e que o relato de casos fatais de toxoplasmose em equinos provenientes do Reino Unido, baseados na detecção de DNA do *T. gondii* necessita de confirmação histológica.

Foi realizada uma infecção experimental em três equinos com *T. gondii*, pela via endovenosa com diferentes concentrações de taquizoítos. Nos animais inoculados foi observada ligeira elevação de temperatura e corrimento ocular. Além disso, apresentaram títulos baixos para anticorpos anti-toxoplasma na reação de Hemaglutinação Indireta. Os autores ratificaram com os resultados as evidências da resistência da espécie equina no desenvolvimento de toxoplasmose clínica (SPÓSITO FILHA et al. 1992).

Em uma inoculação experimental realizada em éguas prenhes negativas para *T. gondii*, com oocistos deste parasito foram relatados sinais clínicos de hipertermia, perda de apetite, prostração, diarreia, secreção ocular mucosa e corrimento nasal seroso (MARQUES et al., 1998). Em outro estudo foram observados sinais clínicos em 52 equinos da raça puro sangue inglês (Psi) positivos para *T. gondii* no teste de Sabin-Feldman. Os animais apresentaram incoordenação motora, histórico de aborto e irritabilidade excessiva (MACRUZ et al., 1974).

2.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser realizado por isolamento de *T. gondii* por meio de bioensaio em camundongos e identificação de oocistos do parasito em fezes de gatos feito com técnicas de flutuação de oocistos (DUBEY ; BEATTIE, 1988). O parasito pode ser identificado em cortes histológicos e através de técnicas de imunohistoquímica pela observação de taquizoítos ou cistos com bradizoítos, embora estas técnicas só possam ser realizadas após a morte do animal. Outra técnica utilizada é a detecção do agente por amplificações específicas do DNA parasitário a partir de tecidos infectados utilizando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), (MACEDO, 1994; KOMPALIC-CRISTO et al., 2005).

O teste considerado de referência para o diagnóstico sorológico da toxoplasmose é a Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI (MIORANZA et al., 2008). Contudo, vários testes sorológicos têm sido usados para a detecção de anticorpos IgG e IgM contra *T. gondii*. Dentre eles, destacam-se o Teste de Sabin-Feldman, Hemaglutinação Indireta, Teste da Aglutinação Modificada, Aglutinação em Látex, ELISA, Fixação do Complemento, *Western Blotting*. Mesmo com todos os testes sorológicos disponíveis, o resultado de um exame sorológico positivo indica que o hospedeiro foi infectado em algum momento de sua vida (DUBEY, 2010).

A RIFI tem como vantagens ser altamente específica e sensível. É considerada de fácil realização, não utiliza organismos vivos e por isto é praticamente isenta de problemas de infecção acidental para os laboratoristas (URQUHART et al., 1998). Outra vantagem que a RIFI apresenta é a capacidade de evidenciar anticorpos dirigidos para os antígenos de superfície do *T. gondii*, sendo mais precoce quando comparada à Hemaglutinação Indireta. Os títulos revelados na RIFI ascendem ao redor do oitavo ou 10º dia pós-infecção e na Hemaglutinação Indireta, somente após o 14º dia (LARSSON, 1989).

Os testes utilizados no diagnóstico da toxoplasmose variam em sua sensibilidade, especificidade e valor preditivo. Como consequência, dois testes não produzem o mesmo resultado em todos os casos, mesmo quando realizados no mesmo laboratório (PETITHORY et al., 1996).

Shaapan et al. (2012) compararam os resultados de testes sorológicos com o PCR como teste de referência para a doença. O Teste de Aglutinação Modificada (1:25) apresentou a maior sensibilidade (93,8%), seguido pelo Teste de Aglutinação em Látex (91,5%) e a com a menor sensibilidade ficou o ELISA (71,3%). Por outro lado, este último apresentou a maior especificidade (92,8%), seguido pelo Teste de Aglutinação Modificada (91,9%), sendo a menor especificidade observada para o Teste de Aglutinação em Látex (88,3%).

2.5 CONTROLE E PROFILAXIA

A toxoplasmose pode ser evitada através de medidas simples como o controle de gatos (destacando-se iniciativas como a castração desses animais como alternativa de controle populacional) e roedores em ambientes rurais, adequado e restrito armazenamento de insumos e ração, medidas gerais de higiene de instalações, instrumentos agropecuários e cuidados pessoais de técnicos e funcionários (PAVLOVIC; IVANOVIC, 2005).

Em áreas periurbanas, medidas de educação sanitária para a população, visando o controle de animais errantes são importantes para o controle da toxoplasmose. A prevenção da eliminação de oocistos pelos gatos é uma das mais importantes formas de controlar a disseminação do *T. gondii* no meio ambiente. Para isso algumas medidas se destacam: não alimentar gatos com produtos cárneos ou mal cozidos, alimentá-los com alimentos secos ou enlatados; controle de moscas, baratas e outros animais que podem servir como hospedeiros do toxoplasma; evitar o contato com solo e areia que possam estar contaminados com fezes de gatos (NAVARRO, 2001).

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Realizar um estudo sorológico da infecção pelo *T. gondii* em muares e asininos na região Nordeste do Brasil.

3.2 ESPECÍFICOS

- Estudar a ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em amostras séricas de asininos e muares provenientes de quatro estados da região Nordeste do Brasil;
- Estudar a associação entre os resultados obtidos quanto à procedência (estado), espécie e sexo.

REFERÊNCIAS

- AJIOTA, J. W. ; SOLDATI, D. Preface. In: Ajiota, J. W. ; Soldati, D. (Ed.). ***Toxoplasma molecular and cellular biology***. Norfolk, UK: Horizon Bioscience, 2007. p. xiii-xviii.
- AMENDOEIRA, M. R. R. et al. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 6, p. 671-676, 2003.
- AZEVEDO, D. S. et al. Isolamento de oocistos de *Toxoplasma gondii* em dois bairros de Recife (PE). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 25, p. 31-36, 1983.
- BARRAGAN, A.; SIBLEY L. D. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 11, n. 9, p. 426-430, 2003.
- BARRAGAN, A.; SIBLEY L. D. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. **The Journal of Experimental Medicine**, New York City, v. 195, p. 1625–1633, 2002.
- CAMOSSI, L. G.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 2, p. 484-488, 2010.
- CORDEIRO, C. A. et al. Imunologia da retinocoroidite toxoplásmica. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 73, n. 6, p. 548-551, 2010.
- DANGOUDUBIYAM, S. et al. Detection of antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in horses from Costa Rica. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 97, n. 3, p. 522-524, 2011.
- DARDÉ M. L. et al. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and biological and epidemiological implications. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 78, p. 786-794, 1992.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton, Flórida: CRC Press Inc, 1988. 220p.

DUBEY, J. P. et al. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, n. 86, p. 235–238, 1999.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst induced toxoplasmosis in cats. **The Journal of Protozoology**, Lawrence, v. 19, p. 155-177, 1972.

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

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

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

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2nd edn. Boca Raton FL, USA: CRC Press Inc., 2010.

EL-GHAYSH, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Egyptian donkeys using ELISA. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 80, p. 71-73, 1998.

GOULART, J. A. **O Muar** : meios e transportes no interior do Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Educação e Cultura, 1998. p. 176-179. Disponível em: <<http://www.jangadabrasil.com.br/revista/janeiro62/pa62001c.asp>>. Acesso em: 2 mar. 2011.

GUIMARÃES, A. C. S. et al. Detecção de anticorpos IgG em pacientes com diferentes manifestações de toxoplasmose. **Revista Laes e Haes**, São Paulo, v. 5, n. 121, p. 96-104, 1999.

GÜÇLÜ, Z. et al. Investigation of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Sport Horses Bred in Ankara Province. **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, Bornova-İzmir, Turkey, v. 31, n. 4, p. 264-267, 2007.

HAJIALILO, E. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses from Qazvin, Iran. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 42, p. 1321–1322, 2010.

HARIDY, F. M. et al. Anti-*Toxoplasma gondii* Antibodies in Working Donkeys and Donkey's Milk in Greater Cairo, Egypt. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, Cairo, v. 40, n. 2, p. 459 – 464, 2010.

IBGE. **Produção da pecuária municipal**. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/ppm2010.pdf>>. Acesso em 16 mar. 2012.

JOHNSON A. M. Speculation on possible life cycles for the clonal lineages in the genus *Toxoplasma*. **Parasitology**, Cambridge, v. 13, p. 393-397, 1997.

KOMPALIC-CRISTO, A. et al. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, p. 229-235, 2005.

KOUAM, M. K. et al. A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 170, p. 170–175, 2010.

LARSSON, C. D. **Diagnóstico laboratorial da toxoplasmose – reações utilizadas e representação clínica**. São Paulo: Porto Feliz, p. 5-11, 1989.

LEITÃO, G. **Jumentos morrem de fome e sede no Ceará**. 2008. CMI Brasil, Disponível em: <<http://www.midiaindependente.org/pt/red/2008/02/412078.shtml>> Acesso em: 9 dez. 2011.

LUZON et al. Epidemiologia – Toxoplasmosis. **Revista Ovis: tratado de patologia y produccion ovina**, Madrid, n. 52, p. 36, 1997.

MACEDO, O. M. Toxoplasmose. In: CASTRO, L. P. et al. **Protozooses humanas**. São Paulo: BYK, 1994. p. 153-169.

MACRUZ, R. et al. Toxoplasmose em equinos PSI. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14; 1974, São Paulo. **Anais...** São Paulo, p. 128.

MARQUES, J. M. M. et al. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de uma comunidade rural do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 889-898, 2009.

MARQUES, L. C. et al. Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: clinical signs, parasitemia and immunological observations. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 19, p. 45-49, 1998.

MEIRELES, L. R. et al. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 267 – 271, 2003.

MENDONÇA, A. O. et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p.115-118, 2001.

MIORANZA, S. L. et al. Evidência sorológica da infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii* em gestantes de Cascavel, Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 6, p. 628-634, 2008.

MODOLO, J. R. et al. Avaliação da ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, em soros de caprinos do estado de São Paulo, e associação com variáveis epidemiológicas, problemas reprodutivos e riscos à saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 12, 2008.

MUNOZ, M.; LIESENFELD, O.; HEIMESAAT, M. M. Immunology of *Toxoplasma gondii*. **Immunological Reviews**, Copenhagen, v. 240, p. 269–285, 2011.

NAVARRO, I. T. **Toxoplasmose**. 2001. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/abraves-sc/pdf/Palestras2001/Itamar_Navarro.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2012.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 6 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1985. p. 141-152.

NAVES, C. S. et al. Soroprevalência da Toxoplasmose em Equinos da Raça Mangalarga Marchador no Município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 11, n. 1, p. 45-52, 2005.

OLIVEIRA, V. B.; SANCHES, S. B.; ALMEIDA, F. Q. **Muares: como tema transversal para o ensino médio e técnico em agropecuária**. 2 ed., Rio de Janeiro: Publit, 2007. 123 p.

PETITHORY, J. C. et al. Performance of European laboratories testing serum samples for *Toxoplasma gondii*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Wiesbaden, v. 15, p. 45-49, 1996.

PAVLOVIC, I.; IVANOVIC, S. Toxoplasmosis of goats and its role and importance in pathology of goat production. **Biotechnology in Animal Husbandry**, Belgrade, v. 21, n. 5-6, p. 123-126, 2005.

POMARES, C. et al. **Emerging Infectious Diseases**. 2011. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/7/10-1642_article.htm>. Acesso em: 5 nov. 2011.

RIZZO, F. E. **Zoonoses de interesse em saúde pública em equinos de frigorífico**. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

SHAAPAN, R. M. et al. PCR and serological assays for detection of *Toxoplasma gondii* infection in sport horses in Cairo, Egypt. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad , v. 7, n. 2, 2012.

SHAAPAN, R. M.; KHALIL, A. M. F. Evaluation of Different *Toxoplasma gondii* Isolates as Antigens Used in the Modified Agglutination Test for the Detection of Toxoplasmosis in Camels and Donkeys. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science**, Faisalabad, v. 3, n. 6, p. 837-841, 2008.

SILVA, R. A. M. S. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses from Pantanal, Brasil. **Veterinaria e Zootecnia**, Botucatu, v. 12, n. 112, p. 20-24, 2005.

SPÓSITO FILHA, C.; do AMARAL, V.; MACRUZ, R.; REBOUÇAS, M. M. ; SANTOS, S. M.; BORGIO, F. Infecção experimental de equinos com taquizoítos de *Toxoplasmas gondii*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 1, n. 1, p. 51-54, 1992.

SOUZA, W. Organização estrutural do taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 20, n. 1, p. 131-143, 2010.

TASSI, P. *Toxoplasma gondii* infection in horses:a review. **Parassitologia**, Roma, v. 49, p. 7-15, 2007.

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

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1998. 273 p.

VASCONCELOS, R. F. B. **Avaliação do desempenho de equinos e mueres para o trabalho agrícola**. 1988. 72 f. Tese – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VERONESI, R. ; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 1290-1305, 2320 p.

VIEIRA, J. F. **Introdução a Zootecnia**. 2008. Disponível em: <<http://www.slideshare.net/joao1959/faculdade-de-cincias-agro-ambientais-muares-presentation>>. Acesso em: 9 dez. 2011.

VILLALOBOS, E. M. C. et al. **Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma gondii e Neospora spp. em asininos (Equus Asinus) criados na região de Colina, São Paulo, Brasil**. 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v72_2/p109.pdf>. Acesso em: 14 maio 2011.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **AIDS**, London, v. 7, n. 3, p. 299-316, 1993.

4. ARTIGO

Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muares e asininos
na região Nordeste do Brasil

(Artigo a ser submetido ao Periódico Veterinary Parasitology)

Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muares e asininos na região Nordeste do Brasil

Elizete de Oliveira¹, Rinaldo Aparecido Mota²

RESUMO: Objetivou-se com este estudo pesquisar anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de muares e asininos criados na região Nordeste do Brasil. Foram utilizadas 483 amostras (395 muares e 88 asininos) procedentes de quatro estados da região Nordeste do Brasil (Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe). Para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi utilizada a técnica da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com ponto de corte 64. Foram observadas frequências de 23,8% e 43,2% de positividade para muares e asininos, respectivamente. O estado de Pernambuco apresentou a maior frequência de amostras positivas (29,2%), observando-se diferença estatística significativa quanto à espécie ($p < 0,001$) e estado ($p = 0,048$). Este estudo é pioneiro no que se refere à pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em muares e asininos nos estados estudados e serve de alerta às autoridades sanitárias para o risco de ingestão de carne de equídeos.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*, equídeos, sorologia, epidemiologia

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in sera from donkeys and mules raised in the Northeast of Brazil. We used 483 samples (395 mules and 88 donkeys) from four states in Northeastern Brazil (Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba and Sergipe). For the detection of anti-*Toxoplasma gondii* was used the technique of Indirect Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) with a cut off 64. Observed frequencies of 23.8% and 43.2% positivity for mules and donkeys, respectively. The state of Pernambuco had the highest frequency of positive samples (29.2%). There was a statistically significant difference in relation to specie ($p < 0.001$) and state ($p = 0.048$). This study is the pioneer in notifying the occurrence of anti-*T. gondii* antibodies in mules and donkeys in the studied States. And it must be considered as an essential alert to the responsible health authorities regarding the eminent risk of equine meat ingestion.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, mules and donkeys, serology, epidemiology

1. Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial que acomete os animais domésticos. O *Toxoplasma gondii* pode causar doença severa, principalmente quando na sua forma congênita. A prevalência da infecção por *T. gondii* em equinos geralmente é baixa (Dubey et al., 1999) e desta forma alguns autores consideram que o risco de contrair a infecção por meio da ingestão da carne desses animais não teria uma importância epidemiológica significativa. No entanto, a carne dos equídeos pode veicular cistos de *T. gondii*, o que representaria riscos para a Saúde Pública em regiões onde é habitual o seu consumo (Mendonça et al., 2001).

Não há evidência definitiva que o *T. gondii* cause doença clínica em cavalos (Dubey et al., 1999), entretanto bradizoítos do parasito já foram identificados no tecido muscular de cavalos saudáveis. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* também já foram descritos no soro de cavalos e muares clinicamente sadios em diversos países (Dubey, 2010). Destaca-se o trabalho realizado por Dubey et al. (1999) em cavalos abatidos para consumo na América do Norte onde observaram 6,9 % das amostras positivas para *T. gondii*.

No Brasil, são poucos os estudos relacionados com a pesquisa de anticorpos em muares e asininos, destacando-se o trabalho realizado por Villalobos et al. (2010) que estudaram a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de jumentos criados no Pólo Regional da Alta Mogiana, SP. Outros trabalhos realizados no Brasil foram feitos por Garcia et al. (1999) no Paraná, Silva (2005) no Pantanal do Mato Grosso, Langoni et al. (2007) em São Paulo e Camossi et al. (2010) também no estado de São Paulo. Nestes estudos a prevalência variou de 1,33% a 12,1%.

Na região Nordeste do Brasil, até o momento apenas foi realizado um trabalho no estado da Bahia onde foram examinados cavalos, muares e asininos. Os resultados obtidos demonstraram uma baixa frequência (1,5%) de animais positivos (Mendonça et al., 2001). No estado de Pernambuco, apesar da população de equídeos ser expressiva, ainda não existem dados disponíveis sobre a

ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em asininos e muares, sendo uma lacuna no que se refere à sanidade destas espécies.

Objetivou-se com este estudo realizar a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de muares e asininos criados na região Nordeste do Brasil.

2. Material e Métodos

Foram utilizadas neste estudo 483 amostras de soros, sendo 395 de muares e 88 de asininos, machos e fêmeas de diferentes idades. As amostras foram provenientes dos estados de Pernambuco (421 amostras: 348 muares e 73 asininos), Paraíba (41 amostras: 36 muares e 5 asininos), Rio Grande do Norte (19 amostras: 9 muares e 10 asininos) e Sergipe (2 amostras de muares). Os soros foram cedidos pelo Laboratório Nacional Agropecuário em Recife (LANAGRO-PE). As amostras permaneceram armazenadas a -20°C até o momento da análise.

Para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi utilizada a técnica de Imunofluorescência Indireta de acordo com Camargo (1974), utilizando ponto de corte 64. A RIFI foi realizada em duas fases, sendo a primeira de caráter qualitativo, denominada triagem (1:64) e a segunda de caráter quantitativo (titulação), testando-se os soros nas diluições de 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 e 1:1024.

Para o preparo das lâminas utilizou-se uma suspensão de taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* obtidos através de lavado intraperitoneal de camundongos experimentalmente infectados. As amostras de soro foram diluídas em PBS com pH 7,6, utilizando-se conjugado anti-IgG equino (SIGMA-ALDRICH®) marcado com isotiocianato de fluoresceína em solução de PBS com pH 7,6, contendo Azul de Evans a 0,01% e previamente diluído a 1:400.

Foram utilizados soros controles positivo e negativo, com títulos previamente conhecidos. A reação positiva foi caracterizada pela fluorescência intensa total na superfície dos taquizoítos, adotando-se como positivos todos os soros reagentes

na diluição 1:64 e negativas as reações que possuíam fluorescência apical ou parcial. A leitura foi realizada em microscópio epifluorescente.

Para identificar a associação entre as variáveis analisadas (estado, espécie e sexo) e a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* foi empregada a análise univariada pelo teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher. Para machos e fêmeas foi utilizada a base de 124 animais que foi o total de fichas epidemiológicas que continham tal informação. Utilizou-se o programa Epi-Info (versão 6.2) para a execução dos cálculos estatísticos. As associações entre as variáveis e frequências de soropositivos foram estimadas com nível de significância de $p < 0,05$ (Dean et al., 1990).

3. Resultados

Na Tabela 1 encontram-se os resultados obtidos na sorologia. Das 395 amostras de mueres testadas, 94 (23,8%) foram positivas e 301 (76,2%) negativas. Das 88 amostras de asininos testadas, 38 (43,2%) foram positivas e 50 (56,8%) negativas. Observou-se diferença estatística significativa em relação à espécie ($p < 0,001$) e estado ($p = 0,048$).

Para machos, observou-se positividade em 18/61 (29,5 %) das amostras e 43/61 (70,5%) foram negativas. Do total de asininos machos avaliados, 9/21 amostras (42,9%) foram positivas e 12/21 (57,1%) negativas; para os mueres machos, 8/40 amostras (20%) foram positivas e 32/40 (80%) negativas. Para fêmeas, 10/63 amostras (15,9%) foram positivas e 53/63 (84,1%) negativas. Do total de asininos fêmeas avaliadas, 3/21 (14,3%) foram positivas e 18/21 (85,7%) negativas e para mueres fêmeas, 7/42 (16,7%) amostras foram positivas e 35/42 (83,3%) negativas.

No estado de Pernambuco, observaram-se 123/421 (29,2%) amostras positivas e 298/421 (70,8%) negativas; para os mueres, 88/348 (25,3%) foram positivas e 260/348 (74,7%) negativas; para os asininos, 35/73 (48%) foram positivas e 38/73 (52%) negativas.

No estado da Paraíba, 4/41 amostras (9,8%) foram positivas e 37/41 (90,2%) negativas; para os muares, 4/36 amostras (11%) foram positivas e 32/36 (89%) negativas; para os asininos, as cinco amostras 5/5 (100%) foram negativas.

No estado do Rio Grande do Norte, 5/19 (26,3%) amostras foram positivas e 14/19 (73,7%) negativas; para os muares, 2/9 (22%) foram positivas e 7/9 (78%) negativas; para os asininos, 3/10 (30%) foram positivas e 7/10 (70%) negativas. No estado de Sergipe, 2/2 (100%) das amostras de muares foram negativas.

Na tabela 2 observa-se que para os muares, 61,7% (58/94) das amostras apresentaram título 64; 27,6% (26/94) apresentaram título 128; 8,5% (8/94), título 256, 1,1% (1/94) das amostras apresentou título de 512 e 1,1% (1/94) apresentou título 1024.

Em relação aos asininos 26,3% (10/38) das amostras apresentaram título 64, 28,9% (11/38), título de 128, 23,7% (9/38), título 256, 13,2% (5/38) título, 512 e 7,9% (3/38) título 1024.

4. Discussão

No Brasil, os poucos trabalhos relacionados com a toxoplasmose se restringem à espécie equina, sendo raros aqueles realizados com muares e asininos. A maior concentração de equídeos encontra-se na região Nordeste do Brasil e nesta região destaca-se o trabalho realizado no estado da Bahia por Mendonça et al. (2001) que estudaram equídeos de duas regiões. Relataram uma prevalência de animais positivos de 1,5%. Os autores discutiram que a baixa frequência de animais positivos naquela região estaria de acordo com a maioria dos trabalhos realizados em equídeos em outros países. Os resultados obtidos neste estudo são diferentes, pois aqui se observou positividade de 23,8% para muares e 48,2% para os asininos em uma região de clima e manejo semelhantes. Também difere dos resultados obtidos para equinos dos estados do Paraná (Garcia et al., 1999), Rio de Janeiro (Gazeta et al., 1997) e São Paulo (Costa et al., 1986) que observaram frequências de 12%, 4,42% e 9,7%, respectivamente. Rizzo (2011) também registraram prevalência de 11,6% de equinos positivos em estudo realizado em seis estados brasileiros. Em outros estudos realizados no Brasil foram

encontrados percentuais de positividade mais elevados e em alguns casos semelhantes ao observado neste estudo como os trabalhos realizados em São Paulo (Villalobos et al., 2005), no Paraná (Contente, 2002) e equinos procedentes de quatro estados brasileiros (Vidotto et al., 1997) que observaram frequências de 47%, 28,46% e 31,55%, respectivamente.

As diferenças observadas nos resultados entre os vários pesquisadores devem ser consideradas, pois foram utilizadas número de amostras distintas e também quanto à metodologia empregada, pois essas variáveis podem interferir no resultado obtido. Neste último aspecto observou-se variação quanto ao ponto de corte adotado para a interpretação dos resultados obtidos. Independente dos fatores que podem interferir na interpretação dos resultados sorológicos verifica-se que há diferença de resultados com amostras de animais provenientes de diferentes locais, o que confirma a importância do ambiente na manutenção do agente e consequente transmissão do *T. gondii* para os animais (Camossi et al., 2010).

No presente estudo, o estado de Pernambuco foi o que apresentou a maior frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, seguido do Rio Grande do Norte e a Paraíba com menor percentual de animais positivos. Sobre este aspecto, pode-se inferir que a origem dos animais de Pernambuco e Rio Grande do Norte devem ter sido fator importante para este resultado, uma vez que 80% dos animais positivos eram provenientes de áreas urbanas e periurbanas. Esta característica de criação pode predispor os animais ao contato com fezes do hospedeiro definitivo, além de lixo contaminado com excrementos desses animais.

A prevalência da infecção em equídeos é mais comum em áreas úmidas e quentes, mas outros fatores podem estar associados, tais como a presença de felinos, idade dos animais e tipo de manejo (Chhabra et al., 1985). Neste estudo, mais de 90% dos animais eram provenientes da região da Zona da Mata e região Metropolitana que apresentam temperatura elevada, alta umidade e elevados índices pluviométricos. Acredita-se que os animais criados em regiões de clima mais ameno e com distribuição regular de chuva apresentam maior frequência de animais positivos, pois este tipo de clima favorece a sobrevivência de oocistos no meio ambiente (Guimarães et al., 1999; Amendoeira et al., 2003; Souza et al., 2002).

A maior ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em asininos em comparação aos muares neste estudo, são contraditórios àqueles obtidos por Mendonça et al. (2001) que sugeriram que os asininos são mais resistentes à infecção por *T. gondii* à semelhança do que ocorre com os equinos. A alta frequência de asininos observada no presente estudo pode ser justificada pelo tipo de criação e manejo dos animais. Neste caso, os asininos também são criados em áreas urbanas e geralmente são abandonados pelos seus proprietários em áreas próximas a aterros sanitários e seu entorno. Este tipo de criação favorece o contato com outras espécies animais, especialmente com felinos e desta forma a ingestão de oocistos presentes no ambiente.

Outro fato importante e que deve ser considerado neste estudo é a possibilidade de ingestão de carne desses animais por populações de baixa renda em áreas de baixo índice de desenvolvimento social. Existem relatos informais de abate clandestino desses animais para a alimentação humana na região estudada. Este fato pode comprometer a saúde pública, pois os consumidores de carne de equídeos podem ingerir cistos teciduais e assim desenvolver a toxoplasmose clínica.

A prevalência da infecção por *T. gondii* em equinos geralmente é baixa (Dubey et al., 1999) e desta forma alguns autores consideram que o risco de contrair a infecção por meio da ingestão da carne desses animais não teria uma importância epidemiológica significativa. No entanto, a carne dos equídeos pode veicular cistos de *T. gondii*, o que representaria risco à Saúde Pública em regiões onde é habitual o seu consumo (Mendonça et al., 2001). Sobre este aspecto, Pomares et al. (2011) descreveram três casos de toxoplasmose que culminaram com óbito dos pacientes na França, causados por cepas atípicas provavelmente adquiridas pela ingestão de carne equina crua importada do Canadá e Brasil.

Sugere-se a realização de outros estudos com delineamento amostral definido por padrões epidemiológicos preconizados para uma avaliação mais abrangente na região Nordeste do Brasil.

Este estudo é pioneiro no que se refere à pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em muares e asininos nos estados estudados e serve de alerta às autoridades sanitárias para o risco de ingestão de carne de equídeos.

5. Referências

Amendoeira, M.R.R., Sobral, C.A.Q., Teva, A., Lima, J.N., Klein, C.H., 2003. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. , v. 36, n. 6, p. 671-676.

Camargo, M.E., 1974. Introdução às técnicas de imunofluorescência. Rev. Bras. Patol. Clín., v. 10, p. 143-169.

Camossi, L.G., Silva, A.V., Langoni, H., 2010. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 62, n. 2, p. 484-488.

Chhabra, M.B. Gupta, S.L.; Gautam, O.P., 1985. *Toxoplasma* seroprevalence in animals in northern India. Int. J. Zoonoses, v. 12, n. 2, p. 136-142.

Contente, A.P. A. Estudo soroepidemiológico de anticorpos anti – *Toxoplasma gondii* em eqüinos atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina- PR. 2002. Disponível em:
<http://www.ppg.uem.br/Docs/pes/eaic/XI_EAIC/trabalhos/arquivos/11-1383-0.pdf>. Acesso em: 3 nov. 2011.

Cordeiro, C.A., Moreira, P.R., Dutra, W.O., Young, L., Campos, W.R., Oréfice, F., Junior, A.L.T., 2010. Imunologia da retinocoroidite toxoplásmica. Arq. Bras. Oftalmol., v. 73, n. 6, p. 548-551.

Costa, A.J., Ishizuka, M.M., Marques, L.C., Vidotto, O., Rocha, U.F., Ikeda, A., 1986. Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo State, Brazil. Ars Vet., v. 2, n. 1, p. 75-79.

Dean, A.G., Dean J.A., Coulombier D., Brendel K.A., Smith D.C., Burton, A.H., 1990. Epi Info, Version 6.2. Word processing, database and statistic program for epidemiology on microcomputers. Centers of Disease Control, Atlanta, Georgia.

Dubey, J.P., Thulliez P., Romand S., Kwok, O.C.H., Shen S.K., Gamble, H.R., 1999. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. Vet. Parasitol., n. 86, p. 235–238.

Dubey, J.P. Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd edn. Boca Raton FL, USA: CRC Press Inc., 2010.

Garcia, J.L., Navarro, I.T., Ogawa, L., Oliveira, R.C. 1999. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do Norte do Paraná-Brasil. Ciênc. Rural, v. 29, n. 1, p. 91-97.

Gazeta, G.S., Dutra, A.E.A., Norberg, A.N., Serra-Freire, N.M., Souza, W.J.S., Amorim, M., Lopes, L.M.S. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de equinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 6, n. 2, p. 87-91, 1997.

Guimarães, A.C.S., Coelho, J.R., Kawarabayashi, M., Requeijo, H.I.Z., 1999. Detecção de anticorpos IgG em pacientes com diferentes manifestações de toxoplasmose. Rev. Laes & Haes, n.121, p.96-104.

Langoni, H., Silva, A.V., Pezerico, S.B., Lima, V.Y., 2007. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., v. 44, n. 1, p. 27-32.

Mendonça, A.O., Cerqueira, E.J.L., Araújo, W.N., Moraes-Silva, E., Shimabukuro, F. H., Sarkis, D.T., Sherlock, I., Langoni, H. 2001. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. Semina Ciênc. Agrar., v. 22, n. 2, p.115-118.

Pomares, C., Ajzenberg, D., Bornard, L., Bernardim, G., Hasseine, L., Dardé, M.-L., Marty, P. Emerging Infectious Diseases. 2011. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/7/10-1642_article.htm> Acesso em: 5 nov. 2011.

Rizzo, F.E. Zoonoses de Interesse em Saúde Pública em Equinos de Frigorífico. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

Silva, R.A.M.S. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses from Pantanal, Brasil. 2005. Vet. Zootec., v. 12, n. 112, p. 20-24.

Souza, A.E.S., Sousa, D.C., Gomez, J.G., Matos, C.S., 2002. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em pacientes atendidos no laboratório Celso Matos – Santarém, PA. Rev. Bras. Anal. Clin., v. 34, n. 1, p. 51-52.

Tassi, P. 2007. *Toxoplasma gondii* infection in horses: a review. Parassitologia, v. 49, p. 7-15.

Vidotto, O., Kano, F.S., Freire, R.L., Mitsuka, R., Ogawa, L., Bonesi, G., Navarro, I. T., Fransciscan, F.S.G. 1997. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS e MT), abatidos em Apucarana, PR. Semina Ciênc. Agrar., v. 18, n. 1, p. 9-13.

Villalobos, E.M.C., Lara, M.C.C.S.H., Cunha, E.M.S., Soares, R.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soro de eqüídeos oriundos de propriedades da região do Vale do Ribeira, estado de São Paulo e abatidos em matadouro no estado do Paraná. 2005. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/suplementos/v72_2/24.pdf>. Acesso em: 8 fev. 2012.

Villalobos, E.M.C., Marques, E.C., Cunha, M.S., Cunha, E.M.S., Nassar, A.F.C., Felicio, P.S., Mori, E., Oliveira, J.V., Lara, M.C.C.S.H. Ocorrência de anticorpos anti*Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. em asininos (*Equus Asinus*) criados na região de Colina, São Paulo, Brasil. 2010. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v72_2/p109.pdf>. Acesso em: 14 maio 2011.

Tabela 1 - Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em muares e asininos na região Nordeste do Brasil, 2012.

| Variável | RIFI | | | | Total | | Valor de p |
|---------------------|----------|----------|----------|----------|-------|----------|------------|
| | Positivo | | Negativo | | F.A. | F.R. (%) | |
| | F.A. | F.R. (%) | F.A. | F.R. (%) | | | |
| Estado | | | | | | | |
| Pernambuco | 123 | 29,2 | 298 | 70,8 | 421 | 100,0 | 0,048* |
| Paraíba | 4 | 9,8 | 37 | 90,2 | 41 | 100,0 | |
| Rio Grande do Norte | 5 | 26,3 | 14 | 73,7 | 19 | 100,0 | |
| Sergipe | - | - | 2 | 100,0 | 2 | 100,0 | |
| Espécie | | | | | | | |
| Muar | 94 | 23,8 | 301 | 76,2 | 395 | 100,0 | |
| Asinino | 38 | 43,2 | 50 | 56,8 | 88 | 100,0 | <0,001* |
| Sexo* | | | | | | | |
| Macho | 18 | 29,5 | 43 | 70,5 | 61 | 100,0 | 0,109 |
| Fêmea | 10 | 15,9 | 53 | 84,1 | 63 | 100,0 | |

*Base – 124 animais

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

F.A. - frequência absoluta

F.R. (%) - frequência relativa

Tabela 2 - Frequência dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* detectados na RIFI, em muares e asininos na região Nordeste do Brasil, 2012.

| Titulação | Muares Positivos | | Asininos Positivos | |
|--------------|---------------------|------------|-----------------------|------------|
| | F.A. | F.R. (%) | F.A. | F.R. (%) |
| 1:64 | 58 | 61,7 | 10 | 26,3 |
| 1:128 | 26 | 27,6 | 11 | 28,9 |
| 1:256 | 8 | 8,5 | 9 | 23,7 |
| 1:512 | 1 | 1,1 | 5 | 13,2 |
| 1:1024 | 1 | 1,1 | 3 | 7,9 |
| Total | 94 | 100 | 38 | 100 |

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

F.A. - frequência absoluta

F.R. (%) - frequência relativa

Veterinary Parasitology

Guide for Authors

Veterinary Parasitology

Types of contributions

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Rapid Communications
4. Short Communications
5. Letters to the Editor
6. Book Reviews

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

Rapid Communications should contain information of high 'news'/scientific value worthy of very rapid publication. Rapid Communications should be submitted to the journal as such (i.e. clearly labelled as a RC) and should, in general, not exceed 2000 words in length. Upon receipt, they will be subject to rapid assessment and if accepted, published with priority.

Short Communications should consist of original observations or new methods within the scope of the journal. Reports of observations previously published from different geographical areas may be accepted only if considered sufficiently unusual or noteworthy. The Communications should be concise with the minimum of references, and cover no more than four pages of the journal; they need not be formally structured as are full papers, but should give sufficient methods and data necessary for their comprehension.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old and were written in English.

Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Dr W. Pomroy

Institute of Veterinary, Animal and Biomedical Sciences

Massey University

Private Bag 11 222

Palmerston North 4442

New Zealand

w.pomroy@massey.ac.nz

Submission of manuscripts

Submission to *Veterinary Parasitology* now proceeds online via Elsevier Editorial System

- <http://ees.elsevier.com/vetpar>. Authors will be guided step-by-step through

uploading files directly from their computers. Authors should select a set of classifications for their papers from a given list, as well as a category designation (Original Research Paper, Short Communication, and so on). Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing.

Authors are invited to suggest the names of up to 5 referees (with email addresses) whom they feel are qualified to evaluate their submission. Submission of such names does not, however, imply that they will definitely be used as referees.

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Authors submitting hard copy papers will be asked to resubmit using Elsevier Editorial System.

Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Ethics

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. They are obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland, or at the following URL: http://www.cioms.ch/publications/guidelines/1985_texts_of_guidelines.htm.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Veterinary Parasitology*.

Preparation of manuscripts

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Language Editing: [Elsevier's Authors Home](#) provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. Authors should also be aware that *The Lucidus Consultancy* edit@lucidusconsultancy.com offers a bespoke service to putative contributors to *Veterinary Parasitology* who need to arrange language improvement for their manuscripts. For more information about language editing services, please email authorsupport@elsevier.com.

Please note that Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products,

goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our terms & conditions <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

2. Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

3. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and not too long)

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to last index (Vol. 100/3-4).

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgments and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions

Tables (separate file(s))

Figures (separate file(s)).

4. Titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type.

5. SI units should be used.

6. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.

3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.

4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.

5. Each table should have a brief and self-explanatory title.

6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.

7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.

8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Illustrations

1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted as separate files, preferably in TIFF or EPS format.
2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.
3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. Any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.
5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
6. Each illustration should have a caption. The captions to all illustrations should be typed on a separate sheet of the manuscript.
7. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.
8. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.
9. If you submit usable colour figures, Elsevier would ensure that these figures appeared free-of-charge in colour in the electronic version of your accepted paper, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you would receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.

Please note that because of technical complications which may arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version, should you not opt for colour in print), you should submit in addition usable black and white figures corresponding to all colour illustrations.

10. Advice on the preparation of illustrations can be found at the following URL:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

Preparation of supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published free of charge online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed – if necessary – by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12–16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on author's names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the

following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates – publications of the same author with one co-author – publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.

5. Use the following system for arranging your references:

a. *For periodicals*

Lanusse, C.E., Prichard, R.K., 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.* 49, 123–158.

b. *For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical*

Weatherley, A.J., Hong, C., Harris, T.J., Smith, D.G., Hammet, N.C., 1993. Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. In: Vercruyse, J. (Ed.), *Doramectin – a novel avermectin*. *Vet. Parasitol.* 49, 45–50.

c. *For books*

Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 344 pp.

d. *For multi-author books*

Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215–224.

6. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references in accordance with BIOSIS Serial Sources, published annually by BIOSIS. The correct abbreviation for this journal is *Vet. Parasitol.*

7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

10. Web references may be given. As a minimum, the full URL is necessary. Any further information, such as Author names, dates, reference to a source publication and so on, should also be given.

11. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.

2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.

5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} , not as Ca^{++} .

6. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ^{18}O .

7. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Footnotes

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information into the normal text.

2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.
2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.
5. For the denomination of parasitic diseases or infections, authors are requested to follow the Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD) published in 1988 in *Veterinary Parasitology* (Kassai, T. et al., 1988. *Vet. Parasitol.* 29, 299–326).

Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/permissions>. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

Authors Rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)
- post a pre-print version of the article on Internet websites including electronic pre-print servers, and to retain indefinitely such version on such servers or sites
- post a revised personal version of the final text of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or institutional website or server, with a link to the journal homepage (on elsevier.com)
- present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such a meeting
- for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for other intra-company use (e.g., training)
- retain patent and trademark rights and rights to any processes or procedure described in the article
- include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially)
- use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of your article in the journal)
- prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements

as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>).

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Author Services

Questions arising after acceptance of the manuscript, especially those relating to proofs, should be directed to Elsevier Ireland, Elsevier House, Brookvale Plaza, East Park, Shannon, Co. Clare, Ireland, Tel.: (+353) 61 709600, Fax: (+353) 61 709111/113, authorsupport@elsevier.com.

Authors can also keep a track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage

<http://www.elsevier.com/locate/vetpar> For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

***Veterinary Parasitology* has no page charges**

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo realizou a pesquisa de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em muares e asininos em quatro estados da região Nordeste do Brasil e demonstrou uma alta frequência de anticorpos anti-*T. gondii* nos muares (23,8%) e asininos (43,2%). Houve diferença estatisticamente significativa entre os estados ($p=0,048$), tendo Pernambuco com a maior frequência (29,2%) e entre as espécies ($p<0,001$) os asininos demonstraram a maior frequência de soros positivos (43,2%).

Trata-se de um estudo pioneiro no que se refere à pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em muares e asininos nos estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe e serve de alerta às autoridades sanitárias quanto ao risco da ingestão de carne de equídeos na região estudada.

Os resultados obtidos neste estudo colaboraram para preencher uma lacuna no que se refere à ocorrência de *T. gondii* em muares e asininos na região estudada e sugere-se a realização de outros estudos mais abrangentes na região Nordeste do Brasil.