



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
NO SEMIÁRIDO**

ANA ISABEL ARRAES SANTOS

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA TOXOPLASMOSE E
NEOSPOROSE EM MAMÍFEROS DOMÉSTICOS E
SILVESTRES NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

PETROLINA
2016

ANA ISABEL ARRAES SANTOS

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA TOXOPLASMOSE E
NEOSPOROSE EM MAMÍFEROS DOMÉSTICOS E
SILVESTRES NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, *Campus* Ciências Agrárias, como requisito da obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias no Semiárido.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta

PETROLINA
2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
NO SEMIÁRIDO**

Ana Isabel Arraes Santos

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA TOXOPLASMOSE E
NEOSPOROSE EM MAMÍFEROS DOMÉSTICOS E
SILVESTRES NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias no Semiárido, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 29 de Janeiro de 2016.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta – CMVET/Univasf
Orientador

Profa. Dra. Hilda Fátima de Jesus Pena – FMVZ/USP
Examinador externo

Prof. Dr. Mateus Matiuzzi da Costa – CZOO/Univasf
Examinador interno

Santos, Ana Isabel Arraes
S237e Estudo epidemiológico da toxoplasmose e neosporose em mamíferos
domésticos e silvestres no semiárido pernambucano / Ana Isabel Arraes Santos.
– Petrolina, 2015.
xiii, 69 f. : il ; 28cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias no Semiárido) –
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, campus de ciências
agrárias, 2015.

Orientador: Mauricio Claudio Horta.

Banca examinadora: Hilda Fátima de Jesus Pena, Mateus MatiuZZi da Costa.

Bibliografia.

1. Neosporose. 2. Toxoplasmose. 3. Zoonose. I. Título. II. Univasf.

CCD **636.0896959**

Dedico a **Deus**. Aos meus **pais** e à minha **tia Elba**, que investiram e acreditaram no meu sonho. A vocês, todo o meu amor e gratidão!

AGRADECIMENTOS

À FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias no Semiárido (Mestrado).

Ao Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta pela oportunidade, paciência, amizade e por orientar-me. Aprendi muitas coisas nesses anos que trabalhamos juntos e sou muito grata por isso.

Ao 72º Batalhão de Infantaria Motorizado pelo apoio ao desenvolvimento do projeto, disponibilizando toda ajuda necessária, como alimentação, acomodação e auxílio dos soldados.

Ao Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevêdo, pela realização da análise estatística.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias no Semiárido, pela contribuição à minha formação.

À Prof^a. Dr^a. Elenice Andrade Moraes pela disponibilização do laboratório para realização da Imunofluorescência Indireta (RIFI).

À Dr^a. Hilda Fátima de Jesus Pena, pela indispensável colaboração e apoio logístico, concedendo os controles positivos e antígenos para realização do sorodiagnóstico.

À Prof^a. Patrícia Avello Nicola, ao Prof. Luiz Cezar Machado Pereira e equipe Cemafauna pela parceria e auxílio na identificação dos mamíferos silvestres.

Aos colegas de mestrado pelo agradável convívio e troca de experiências.

Ao Dr. Thiago Fernandes Martins, pela amizade e por me ajudar sempre que precisei, principalmente buscando artigos que eu não encontrava.

Aos companheiros e ex-companheiros de laboratório Ivo Wesley, Mariana Fontalvo, Laís Ferrari, Anne Dantas, Eline Almeida, Viviane Lopes, Hisis Cristine, Taires Rodrigues, Nadson Benevides, Mariana Sales, Maíra Araújo, Dália Machado, Nara Nagle, Glauber Meneses, Sandra Geisa, Elaine Monalize, Tássia Ívila, Naylla Marcula, Anna Maria e Kelly Pilissani pela ajuda nas coletas, acordando de madrugada, carregando armadilhas pesadas, no processamento das amostras,

pelas boas risadas, saídas e raivinhas também. A todos o meu sincero reconhecimento e gratidão.

À Andreina de Carvalho, pelo apoio no processamento das amostras e pela colaboração sempre que solicitada.

Ao Josenilton Rodrigues, pelo apoio incondicional durante todo o experimento, pelos ensinamentos e amizade.

Às minhas amigas e veterinárias Renata Peixoto, Amanda Maia e Laíse Rodrigues, não só por ajudar no âmbito do mestrado, mas também por me fazerem rir e esquecer os problemas. A nossa amizade foi essencial nessa caminhada, teria sido muito mais difícil sem vocês.

Às minhas amigas Enaura, Larissa, Suelen, Wanessa, Itavielly, Paulinha, Cindira, Patrícia e Raphaela pela convivência agradável, por me escutarem sempre, me aconselharem e acalmarem meu coração. Em especial às amigas Letícia e Deuzilane, pelo apoio direto, por me acolherem sempre com muito carinho.

Aos funcionários da UNIVASF que sempre me receberam com um bom dia e com sorriso no rosto.

RESUMO

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são protozoários intracelulares pertencentes ao Filo Apicomplexa. O objetivo do presente estudo foi realizar um estudo epidemiológico da infecção natural por *N. caninum* e *T. gondii* em mamíferos domésticos e silvestres do município de Petrolina no Estado de Pernambuco. De agosto de 2014 a abril de 2015, foram colhidas amostras de sangue de 179 ovinos, 174 caprinos, 56 cães e 32 gatos em 17 propriedades do município de Petrolina; e 60 mamíferos silvestres das espécies: *Galea spixii* (2), *Wiedomys pyrrhorhinus* (2), *Monodelphis domestica* (5), *Didelphis albiventris* (27), *Thrichomys apereoides* (24). As amostras dos animais domésticos foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum*, utilizando-se diluições de 1:64 para caprinos e ovinos; 1:16 para cães e gatos nos testes para *T. gondii*; e de 1:50 em todas as espécies para *N. caninum*. Amostras de soro dos mamíferos silvestres foram testadas pelo do Teste de Aglutinação Modificada (MAT) quanto à presença de anticorpos anti-*T. gondii*, com ponto de corte na diluição de 1:25. Amostras de sangue dos animais silvestres foram submetidas à reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para pesquisa do DNA de *T. gondii* e *N. caninum*. Um questionário sanitário foi aplicado para obtenção de dados sobre os animais domésticos com a finalidade de verificar os possíveis fatores de risco pela análise univariada e posterior regressão logística. A prevalência observada pela RIFI para *T. gondii* foi de 12,3%, 8%, 33,9% e 21,9% para ovinos, caprinos, cães e gatos, respectivamente. A prevalência observada para *N. caninum* foi de 21,8%, 2,9%, e 6,3% para ovinos, caprinos e gatos, respectivamente. Nenhum cão foi sororreagente para *N. caninum*. Duas amostras provenientes de *D. albiventris* (3,3%) foram reagentes para a presença de anticorpos anti-*T. gondii* pelo MAT com título final de 25. Nenhuma amostra mostrou-se positiva à PCR. Foi possível determinar como fatores de risco para caprinos: o contato com gatos e a limpeza do ambiente anualmente para *T. gondii* e *N. caninum*, respectivamente; e para ovinos: a não vermifugação e a limpeza do ambiente mensalmente ou a cada 2-4 meses para *T. gondii*. Foi possível confirmar, de forma inédita, a circulação de ambos agentes em áreas rurais do município de Petrolina.

Palavras-chaves: Toxoplasmose. Neosporose. Zoonose. Sorodiagnóstico.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii and *Neospora caninum* are intracellular protozoan required belonging to the phylum Apicomplexa. This study aimed to conduct an epidemiological study of the natural infection by *N. caninum* and *T. gondii* in domestic and wild mammals in the city of Petrolina in Pernambuco State. From August 2014 to April 2015, samples were collected from blood of 179 sheep, 174 goats, 56 dogs and 32 cats in 17 properties the city of Petrolina; and also of 60 wild mammals species: *spixii Galea* (2), *Wiedomys pyrrhorhinus* (2), *Monodelphis domestica* (5), *Didelphis albiventris* (27), *Thrichomys apereoides* (24). Samples of domestic animals were subjected to indirect immunofluorescence assay (IFA) for anti-*T. gondii* and *N. caninum* research. *T. gondii* and *N. caninum*, using 1:64 dilutions for sheep and goats; 1:16 for dogs and cats in tests for *T. gondii*; and 1:50 in all species for *N. caninum*. Serum samples from wild mammals were tested by the Modified Agglutination Test (MAT) to detect the presence of anti-*T. gondii*, using cut-off point dilution of 1:25. Blood samples from wild animals were submitted to the Polymerase Chain reaction (PCR) for *T. gondii* and *N. caninum* DNA research. A health questionnaire was used to obtain data on domestic animals in order verify potential risk factors by univariate analysis and subsequent logistic regression. The prevalence observed by IFA for *T. gondii* was 12,3%, 8%, 33,9% and 21,9% for sheep, goats, dogs and cats. The prevalence observed for *N. caninum* was 21,8%, 2,9% and 6,3% for sheep, goats and cats. None of the dog samples yielded positive for *N. caninum*. Two samples of *D. albiventris* (3,3%) were positive for the presence of anti-*T. gondii* by MAT with final title of 25. None of the samples was PCR positive. It was possible to identify as risk factors for goats: contact with cats and yearly environmental cleaning for *T. gondii* and *N. caninum*, respectively; for sheep: no vermifugation and monthly or every 2-4 months environmental cleaning for *T. gondii*. It was confirmed in an unprecedented way, the movement of both agents in rural areas of Petrolina city.

Key words: Toxoplasmosis. Neosporosis. Zoonosis. Serodiagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Representação do estado do Pernambuco e do município de Petrolina.	25
Figura 2	Locais de coleta de mamíferos silvestres.	26
Figura 3	Pontos de coleta dos animais domésticos.	27
Figura 4	Alocação de armadilhas do tipo Sherman (A) e Tomahawk (B).	28
Figura 5	Mamíferos silvestres capturados. (A) <i>Galea spixii</i> ; (B) <i>Wiedomys pyrrhorhinus</i> ; (C) <i>Monodelphis domestica</i> ; (D) <i>Didelphis albiventris</i> ; (E) <i>Thrichomys apereoides</i> .	38
Figura 6	Mamíferos domésticos. (A) gato; (B) cão; (C) ovelha; (D) cabra.	39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Oligonucleotídeos utilizados na <i>nested</i> -PCR <i>single tube</i> para detecção da infecção por <i>N. caninum</i> .	32
Quadro 2	Concentração dos reagentes utilizados na Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para <i>N. caninum</i> .	32
Quadro 3	Oligonucleotídeos utilizados na <i>nested</i> -PCR para detecção da infecção por <i>T. gondii</i>	33
Quadro 4	Concentração dos reagentes utilizados na Reação em Cadeia pela polimerase (PCR) para <i>T. gondii</i> .	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Prevalência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> , segundo o estado e teste sorológico empregado.	19
Tabela 2	Número de animais silvestres capturados no município de Petrolina, PE.	36
Tabela 3	Ocorrência de mamíferos domésticos de acordo com a ordem e espécie.	37
Tabela 4	Número de mamíferos domésticos amostrados nas áreas adjacentes às áreas de captura dos silvestres.	40
Tabela 5	Frequência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em caprinos considerando os títulos.	42
Tabela 6	Prevalência de anticorpos anti- <i>T.gondii</i> em caprinos que tinham contato com plantas tóxicas.	44
Tabela 7	Prevalência de anticorpos anti- <i>T.gondii</i> em caprinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.	45
Tabela 8	Frequência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em ovinos considerando os títulos.	46
Tabela 9	Prevalência de anticorpos anti- <i>T.gondii</i> em ovinos que tinham contato com plantas tóxicas.	48
Tabela 10	Prevalência de anticorpos anti- <i>T.gondii</i> em ovinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.	48
Tabela 11	Frequência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em cães considerando os títulos.	49
Tabela 12	Prevalência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em cães, que tinham contato com mata/caatinga e que tinha hábito de caçar.	50

Tabela 13	Prevalência de anticorpos anti- <i>T.gondii</i> em cães, de acordo com o tipo de alimentação.	50
Tabela 14	Frequência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em gatos considerando os títulos.	51
Tabela 15	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em caprinos que tinham contato com plantas tóxicas.	51
Tabela 16	Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em caprinos considerando os títulos.	52
Tabela 17	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em caprinos que tinham contato com plantas tóxicas.	54
Tabela 18	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em caprinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.	55
Tabela 19	Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em ovinos considerando os títulos.	56
Tabela 20	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em ovinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.	56
Tabela 21	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em ovinos que tinham contato com plantas tóxicas.	57
Tabela 22	Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em gatos considerando os títulos.	57
Tabela 23	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em gatos, que tinham contato com mata/caatinga e que tinham hábito de caçar.	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
G	Gramas
H ₃ BO ₃	Ácido Bórico
ITS	Espaço interno transcrito
KCl	Cloreto de Potássio
MAT	Teste de Aglutinação Modificada
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
mM	Milimolar
Nº	Número
NaCl	Cloreto de Sódio
NaH ₂ PO ₄	Fosfato de Sódio Monobásico
Na ₂ HPO ₄	Fosfato de Sódio Dibásico
NaN ₃	Azida Sódica
PBS	Solução tampão de Fosfato
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Bioma caatinga	16
3.2 <i>Toxoplasma gondii</i>	16
3.2.1 Agente etiológico	16
3.2.2 Ciclo evolutivo	17
3.2.3 Epidemiologia	18
3.2.4 Sinais Clínicos	19
3.2.5 Diagnóstico	20
3.2.6 Prevenção	21
3.3 <i>Neospora caninum</i>	21
3.3.1 Agente etiológico	22
3.3.2 Epidemiologia	22
3.3.3 Ciclo Evolutivo	23
3.3.4 Diagnóstico	23
3.3.5 Prevenção	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Local de estudo	25
4.2 Mamíferos silvestres	27
4.3 Mamíferos domésticos	29
4.4 Diagnóstico Sorológico	29
4.4.1 Teste de Aglutinação Modificada (MAT)	29
4.4.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	30
4.4.2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	30
4.4.2.2 <i>Neospora caninum</i>	30
4.5 Diagnóstico Molecular	31
4.5.1 Extração de DNA	31
4.5.2 Reação em Cadeia pela polimerase (PCR)	31
4.5.2.1 <i>Neospora caninum</i>	31
4.5.2.2 <i>Toxoplasma gondii</i>	32
4.6 Georreferenciamento	34
4.7 Aplicação de questionários	34
4.8 Análise estatística	34
4.9 Aspectos éticos	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Mamíferos silvestres	36
5.1.1 Teste de Aglutinação Modificada (MAT)	38
5.1.2 Reação em Cadeia pela polimerase (PCR)	39
5.2 Mamíferos Domésticos	39

5.2.1 Caprinos	40
5.2.2 Ovinos	41
5.2.3 Cães	41
5.2.4 Gatos	41
5.3 Sorodiagnósticos para <i>Toxoplasma gondii</i> em animais domésticos	41
5.3.1 Caprinos	41
5.3.2 Ovinos	45
5.3.3 Cães	49
5.3.4 Gatos	51
5.4 Sorodiagnóstico para <i>Neospora caninum</i> em animais domésticos	52
5.4.1 Caprinos	52
5.4.2 Ovinos	55
5.4.3 Cães	57
5.4.4 Gatos	57
7. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	60

1. INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são parasitas intracelulares pertencentes ao Filo Apicomplexa. Por conseguinte, possuem características estruturais muito semelhantes, o que ocasionou, durante muitos anos, o diagnóstico errôneo do *N. caninum* como sendo *T. gondii* (DUBEY, 2003; TENTER, 2002).

T. gondii apresenta um ciclo de vida facultativamente heteróxico podendo infectar todos os animais homeotérmicos. Esse protozoário é predominante mundialmente, apresentando grande importância na medicina veterinária e de saúde pública por ser uma zoonose, por ocasionar aborto e doença congênita em seus hospedeiros intermediários, por isso tem sido estudado mais intensamente entre os coccídeos (TENTER et al., 2000).

A forma que os animais de sangue quente podem se infectar é através da deglutição de oocistos, água ou o ambiente em geral. Uma vez ingerido, esporozoítos são liberados a partir dos oocistos, penetram no intestino, invadindo diferentes tipos de células e se multiplicam de forma assexuada, tornando-se taquizoítos. Por fim, a pressão imunológica no parasita, resulta na formação de cistos, os bradizoítos. Estes cistos se formam particularmente no músculo, cérebro e sistema nervoso central (MILLER et al., 2009).

Oocistos de *T. gondii* possuem um papel importante na transmissão da infecção para roedores e seres humanos por serem resistentes ao tratamento de água comum com cloração (JONES e DUBEY, 2010; DUMÈTRE e DARDÉ, 2003). Os animais de vida livre, como ratos e camundongos, poderiam desenvolver um papel de sentinela no meio ambiente para *T. gondii* em áreas urbanas, já que eles são expostos a todas as formas infectantes do parasita (MEIRELES et al., 2004).

Sabe-se que pequenos roedores possuem um papel importante no ciclo de vida do *T. gondii*, pois eles representam a principal fonte de infecção para os gatos domésticos ou selvagens (DABRITZ et al., 2008). Silva e Langoni (2005) avaliaram títulos de anticorpos anti-*T. gondii* em ratos inoculados experimentalmente e detectaram sororreatividade em todos.

A neosporose emergiu como uma doença preocupante, acometendo, principalmente, bovinos e cães (GENNARI, 2004). Nos últimos anos apontou como principal doença reprodutiva de bovinos do mundo inteiro e atualmente é

considerada como uma importante causa de aborto em rebanhos leiteiros e de corte (TREES et al., 1999; ANDERSON et al., 2000; DUBEY, 2003).

Neospora caninum apresenta ciclo biológico do tipo heteróximo, com participação de hospedeiros definitivos e intermediários. Usando duas formas distintas de reprodução: assexuada, que ocorre nos tecidos do organismo dos hospedeiros, caracterizada pela multiplicação rápida dos taquizoítos, ou lenta dos bradizoítos; e sexuada, que embora não tenha sido totalmente descrita, acontece no sistema digestivo dos hospedeiros definitivos, os canídeos (DUBEY et al., 2002; DUBEY et al., 2007).

O potencial zoonótico do parasito ainda não foi bem elucidado. Contudo, relato de sororreatividade em humanos com algum tipo de imunodeficiência ou não também foi associada ao caso de sucesso obtido na infecção experimental em primatas não humanos, porém, não permite afirmar que o potencial existe ou não, sendo necessários estudos adicionais para elucidar esta questão (BARR et al., 1994; DUBEY et al., 2007).

A partir da identificação de *N. caninum* em diversas espécies silvestres, a possibilidade da ocorrência de transmissão entre estes e os animais domésticos vem sendo bastante discutida. A existência do chamado ciclo silvestre da neosporose, que acontece entre canídeos e herbívoros selvagens, poderia influenciar na epidemiologia dos rebanhos domésticos (ROSYPAL e LINDSAY, 2005; GONDIM, 2004).

Sabendo-se que algumas espécies silvestres e domésticas estão envolvidas na epidemiologia do *T. gondii* e *N. caninum*, e, devido à ausência de informações sobre a ocorrência desses agentes nos animais no semiárido o presente estudo teve como objetivo realizar o estudo epidemiológico da Toxoplasmose e Neosporose em mamíferos domésticos e silvestres do interior do município no semiárido pernambucano.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar um estudo epidemiológico da infecção natural por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em mamíferos domésticos e silvestres do município de Petrolina no Estado de Pernambuco.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em amostras obtidas de mamíferos domésticos, pela reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI);

- Pesquisar a infecção de DNA de *T. gondii* e *N. caninum* em amostras de sangue total dos animais silvestres, pela reação em cadeia pela Polimerase (PCR);

- Georreferenciar os pontos dos animais soropositivos e soronegativos através de mapas confeccionados;

- Analisar os possíveis fatores de risco para a infecção pelos agentes pesquisados, através da aplicação de questionários.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Bioma Caatinga

A palavra caatinga tem origem indígena e quer dizer "mata branca", "mata rala" ou "mata espinhenta". Recebeu esse nome dos índios que habitavam a região porque no período de seca a mata fica esbranquiçada (ALBUQUERQUE e BANDEIRA, 1995). Ainda que a diversidade de plantas e animais em ambientes áridos e semiáridos seja menor que nas florestas tropicais, os desertos apresentam plantas e animais adaptados a suas condições extremas, o que os torna ambientes com alta taxa de endemismos de fauna e flora. No Brasil, não existe deserto, mas sim a Caatinga, que é o único bioma restrito ao território brasileiro, ocupando basicamente a Região Nordeste, com algumas áreas no Estado de Minas Gerais. Poucos são os mamíferos endêmicos da Caatinga, mas nesta região muito ainda está para se descobrir. Contrastando com a relevância biológica da Caatinga, o bioma pode ser considerado um dos mais ameaçados do Brasil. A maior parte de sua superfície já foi bastante transformada pela utilização e ocupação humana. (LEAL e SILVA, 2003).

3.2 *Toxoplasma gondii*

3.2.1 Agente etiológico

Os protozoários competem ao Reino Protista, sub-reino Protozoa e Filo Apicomplexa. Dentro deste Filo se destaca a família Sarcocystidae, apresentando como subfamília a Toxoplasmatinae, na qual contém vários gêneros e entre eles, o *Toxoplasma*, compreendendo uma única espécie: o *T. gondii* (TENTER et al., 2002).

Alguns autores e especialistas em Toxoplasmose adotam a primeira descrição de *T. gondii* em dois estudos distintos, no qual foram realizados em 1908. Um estudo foi realizado na Tunísia pelos pesquisadores franceses Charles Jules Henry Nicolle e Louis Herbert Manceaux, enquanto que o outro foi realizado no Brasil pelo italiano Alfonso Splendore. Devido à presença de características

morfológicas semelhantes à *Leishmania* e pelo fato dos estudos terem sido realizados com um roedor nativo da África, o gundi (*Ctenodactylus gundi*), o protozoário foi denominado *Leishmania gondii* e no ano seguinte recebeu a nomenclatura que é utilizada atualmente (MORRISSETTE e AJIOKA, 2009; NICOLLE e MANCEAUX, 1908).

O primeiro relato desse protozoário em humanos no Brasil foi em 1927 no Rio de Janeiro (DUBEY et al., 2012). Em 1942, a toxoplasmose foi detectada em gatos e, em 1957, a importância veterinária tornou-se conhecida quando foi considerada a causa de aborto em ovinos. Em 1970, a descoberta dos felídeos como hospedeiros definitivos ocasionou à elucidação do ciclo biológico completo do *T. gondii* (DUBEY, 2008).

Hoje, considerado o coccídeo mais estudado no mundo com mais de 15.000 artigos de pesquisas, *T. gondii* é um dos agentes mais comuns em infecções parasitárias dos animais de sangue quente (TENTER et al., 2000).

3.2.2 Ciclo evolutivo

Morfologicamente o *T. gondii* apresenta três formas infecciosas: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Os taquizoítos apresentam, a forma de lua crescente com extremidade anterior em forma de cone e posterior arredondada, medindo cerca de 2 x 6 µm (DUBEY et al., 1998). Os bradizoítos também apresentam formato de lua crescente, entretanto são mais delgados e alongados, medindo aproximadamente 7 x 1,5 µm. São encontrados agrupados formando um cisto tecidual com parede fina e elástica, que pode conter de dois a centenas de parasitas.(DUBEY, 1988a; DUBEY et al., 1998).

Os cistos são mais comumente encontrados no tecido nervoso e muscular cardíaco e esquelético, ainda que já tenham sido identificados em órgãos viscerais como rins, pulmões e fígado. Os cistos teciduais podem permanecer intactos por toda a vida do animal sem causar doença ou resposta inflamatória (DUBEY, 1988b; DUBEY et al., 1998). Os oocistos são achados apenas nos hospedeiros definitivos (os felídeos) e possuem formato esferóide. Após a esporulação (forma de resistência no ambiente), os oocistos contém dois esporocistos. Um esporocisto contém quatro esporozoítos cada um (DUBEY et al., 1998).

Todas as fases evolutivas são consideradas infecciosas para ambos hospedeiros e estes podem se infectar por diferentes vias, como a horizontal, através da ingestão oral de oocistos esporulados que podem ser encontrados no ambiente e/ou por ingestão de cistos teciduais encontrados na carne crua ou mal cozida; ou verticalmente, pela transmissão transplacentária de taquizoítos. Estes também podem ser transmitidos pelo leite, da mãe para o filho, ou por transplante de sangue ou órgãos (DUBEY et al., 1998; DUBEY, 1991).

Os felídeos podem eliminar os oocistos no ambiente posteriormente a ingestão de qualquer um dos estágios evolutivos do *T. gondii*, mas, somente 30% dos felinos eliminam essa fase no ambiente após ingerir taquizoítos ou oocistos, enquanto, praticamente todos os gatos que ingerem bradizoítos, eliminam-nos (DUBEY et al., 1996). Nas fezes frescas, os oocistos encontram-se na forma não-esporulada e não são infectantes (FRENKEL et al., 1970). O período de esporulação ocorre no ambiente de 1-5 dias após liberação nas fezes e depende das condições de temperatura e umidade (DUBEY et al., 1998). Os gatos, em geral, não voltam a excretar oocistos quando reinfetados, pois desenvolvem imunidade, devido à primeira infecção (DUBEY, 1995).

Na fase de eliminação fecal, o gato contamina o ambiente com aproximadamente 100.000 oocistos por grama de fezes. Os oocistos são excretados por apenas uma ou duas semanas, no entanto, podem permanecer viáveis por até dois anos em condições de temperatura e umidade favoráveis, devido à sua resistência aos agentes físicos e químicos. Ainda no solo, os oocistos podem ser carregados mecanicamente por moscas, baratas, besouros e minhocas, como também ficarem viáveis em frutas e vegetais por longos períodos (KNIEL et al., 2002).

3.2.3 Epidemiologia

Como o homem pode participar do ciclo, sendo um hospedeiro intermediário, a toxoplasmose é considerada uma zoonose (TENTER et al., 2000). Essa doença apresenta distribuição mundial e estima-se que um terço, ou mais, da população do mundo seja cronicamente infectada (MONTROYA e LIESENFELD, 2004). No Brasil, a infecção pelo *T. gondii* está amplamente disseminada em humanos, sendo que 50% das crianças e 80% das mulheres em idade fértil apresentam anticorpos para esse

protozoário (DUBEY et al., 2012). Os índices de soropositividade variam de 23 a 83%, dependendo de fatores climáticos, socioeconômicos e culturais (FIALHO et al., 2009).

No Brasil, estudos sorológicos revelaram uma soropositividade acima de 90% nos animais domésticos e silvestres avaliados (DUBEY et al., 2012). Algumas prevalências podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, segundo o estado e teste sorológico empregado.

Espécie	Local	Prevalência	Teste	Referência
Ovinos	Pernambuco	35,3%	RIFI	Silva et al., 2003
Ovinos	Distrito Federal	38,2%	RIFI	Ueno et al., 2009
Ovinos	Rio Grande do Norte	20,7%	RIFI	Soares et al., 2009
Caprinos	Ceará	25,1%	ELISA	Cavalcante et al., 2008
Caprinos	Maranhão	4,3%	RIFI	Moraes et al., 2011
Caprinos	São Paulo	14,5%	RIFI	Mainard et al., 2003
Marsupiais	Pernambuco	6,7%	MAT	Siqueira et al., 2013
Roedores	Pernambuco	5,7%	MAT	Siqueira et al., 2013
Roedores	São Paulo	0,46%	Bioensaio	Muradian et al., 2012
Gatos	Paraná	73%	RIFI	Garcia et al., 1999
Gatos	Maranhão	50,5%	RIFI	Braga et al., 2012
Gatos	Santa Catarina	14,33%	RIFI	Rosa et al., 2010
Gatos	São Paulo	35,4%	MAT	Pena et al., 2006
Gatos	Paraíba	43,8%	RIFI	Feitosa et al., 2014
Cães	Piauí	18%	RIFI	Lopes et al., 2011
Cães	Rondônia	76,4%	RIFI	Cañón-Franco et al., 2004

3.2.4 Sinais Clínicos

A infecção clínica em adultos é geralmente assintomática, mas sinais clínicos como: linfadenopatia ou toxoplasmose ocular podem ocorrer em alguns pacientes (SU et al., 2010). Em relação aos pacientes imunossuprimidos, a toxoplasmose

apresenta-se de forma aguda, podendo em alguns casos levar a encefalite fatal ou causar problemas neurológicos (MONTROYA e LIESENFELD, 2004).

Infecção por *T. gondii* pode causar manifestações neurológicas graves ou doença ocular no feto durante o período de gravidez (DUBEY, 2008).

Os gatos, quando desenvolvem a doença clínica, tem como manifestação clínica mais evidente a pneumonia. Mas, também podem se apresentar deprimidos, anoréxicos, ictericos, dispneicos e com convulsões culminando com a morte. Além destes sinais clínicos que ocorrem nos felinos, os cães apresentam intensa manifestação muscular (miosite), fraqueza, marcha rígida e/ou emaciação muscular. Nos caninos é comum, no caso de manifestação neuromuscular, ocorrer ataxia, convulsões, tremores, déficits nervosos cranianos, paresia e paralisia (LAPPIN, 2004).

Em cães, os sinais clínicos se resumem a problemas do trato respiratório, gastrointestinal e a presença de cistos neuromusculares. Os sinais neurológicos são caracterizados por ataxia, tremores, espasmos e convulsões (SILVA et al., 2005).

Em ovelhas não é comum se notar sinais clínicos da toxoplasmose. Comumente estes são observados no segundo terço da gestação de uma fêmea com primo infecção e incluem fetos mortos, cordeiros fracos ou mumificação fetal, além de necrose placentária (BUXTON, 1998). Os caprinos são considerados muito sensíveis à infecção por *T. gondii*. Quando infectados durante a gestação, em estudos experimentais, apresentaram parasitemia na primeira semana pós-infecção; na segunda semana a placenta estava infectada. (DUBEY, 1988b).

3.2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser realizado de diversas maneiras. Com o objetivo de isolar o agente em amostras suspeitas de placenta ou fetos abortados, a melhor técnica é a inoculação intraperitoneal em camundongos. As técnicas de avaliação de cortes histológicos de placenta ou órgãos fetais, por meio da imunohistoquímica são consideradas uma boa técnica para a identificação de cistos teciduais ou taquizoítos. Outro teste direto é a reação em cadeia pela polimerase (PCR), que é utilizado para detecção do DNA parasitário. A técnica de PCR em tempo real permite quantificar e amplificar o DNA simultaneamente. Dentre os testes sorológicos, os mais utilizados são a reação de imunofluorescência indireta

(RIFI), hemaglutinação direta (HA), hemaglutinação indireta (IHA) e ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* (OIE, 2008).

3.2.6 Prevenção

Ainda que muitas pesquisas mostrem os gatos como a principal causa do problema, é necessário entender que outros felídeos tem igual participação no ciclo da enfermidade e que a posse responsável de gatos domésticos não está diretamente relacionada ao risco de transmissão de *T. gondii* para a população humana (DUBEY e JONES, 2008). Criação de porcos de modo que impeça o acesso dos roedores e de gatos certamente irá reduzir a infecção por *T. gondii* em suínos e, conseqüentemente, a transmissão para seres humanos. Portanto, as práticas adequadas de manejo evitando ou eliminando a presença de felídeos e roedores no ambiente de convívio dos animais, educação sanitária e vacinação são apontadas como alternativas no controle da toxoplasmose, (DUBEY, 1996b).

3.3 *Neospora caninum*

3.3.1 Agente Etiológico

Em 1984, na Noruega, cães foram diagnosticados com uma doença neurológica, com aspecto semelhante à toxoplasmose, no qual foram encontrados taquizoítos no cérebro e músculos, porém a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* não foi detectada no soro destes cães, e também não responderam ao bioensaio em camundongos (BJERKAS et al., 1984).

Dubey et al. (1988a) fizeram um estudo com lâminas de tecidos de cães entre os anos de 1948 a 1987, ao examinarem cortes histológicos através da imunohistoquímica com a suspeita de estarem acometidos pela toxoplasmose, verificaram a existência de um parasito distinto morfológicamente e antigenicamente do *T. gondii*, posteriormente, classificado como *N. caninum*. Anos depois se verificou que esse coccídeo ocasionava uma forma clínica mais severa do que *T. gondii* e foram constadas diferenças estruturais entre esses parasitas (DUBEY e LINDSAY, 1993). É sabido que a análise da diversidade genética do *N. caninum* é limitada. O

número de isolados disponíveis ao redor do mundo é pequeno em comparação com outros agentes do filo Apicomplexa (DUBEY et al., 2007).

Em 1998, o cão foi definido como hospedeiro definitivo; em 2004, o coiote (*Canis latrans*) encontrou para o grupo, em 2010 o Dingo Australiano e mais recentemente o Lobo cinzento (*Canis lupus*) (GONDIM et al., 2004; MCALLISTER et al., 1998; KING et al., 2010; DUBEY et al., 2011a).

3.3.2 Epidemiologia

A primeira detecção do parasita no Brasil foi realizada por Gondim et al. (1999), por meio de imunohistoquímica, em um feto bovino abortado.

Neospora caninum foi identificado de cães, os quais são hospedeiros definitivos e intermediários (DUBEY et al., 1988b); de ovelhas (DUBEY et al., 1990; PENA et al., 2007), de bovinos (ANDERSON et al., 1991; DIJKSTRA et al., 2002), de cabras (BARR et al., 1993; DUBEY et al., 1996), de cervídeos (DUBEY et al., 1996; VIANNA et al., 2005), equinos (DUBEY, 1999), de ovinos (HELMICK et al., 2002). Em animais silvestres já foi encontrado em alpacas (*Vicugna pacos*), lhamas (*Lama glama*), camelos (SADREBAZZAZ et al., 2006), gambás (YAI et al., 2003), capivaras (YAI et al., 2008) e raposas (BUXTON et al., 1997) entre outros.

3.3.3 Ciclo evolutivo

Há três formas infectantes do parasita: taquizoítos, bradizoítos (cistos teciduais) e esporozoítos (oocistos) (DUBEY, 2003). O hospedeiro pode infectar-se pela ingestão de oocistos ou de cistos teciduais, ou pela via transplacentária. O oocisto esporulado apresenta dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2002). Os cães eliminam nas fezes uma quantidade de oocisto pequena em comparação à quantidade eliminada de *T. gondii* pelos gatos (DUBEY et al., 2002), no entanto Gondim et al. (2005) observaram que filhotes eliminam uma quantidade maior que cães adultos.

Até então, não existe evidência de que o *N. caninum* tenha um caráter zoonótico, apesar de existir relatos da presença de anticorpos anti-*N. caninum* em soros. Observaram 69 soros positivos (6,7%) dentre 1029 soros de doadores de sangue na Califórnia através da reação de imunofluorescência indireta à diluição

1:100, mas à diluição 1:200 todos foram negativos (TRANAS et al., 1999). Contudo, não há relatos da doença clínica em humanos e o parasita ainda não foi isolado de tecido humano (IBRAHIM et al., 2009). Outro fator relevante está associado ao caso de sucesso obtido na infecção experimental em primatas não humanos, porém, não permite afirmar que o potencial existe ou não, sendo necessários estudos adicionais para elucidar esta questão (DUBEY et al., 2007).

3.3.4 Diagnóstico

Existe uma variedade de métodos para diagnosticar a neosporose, como, a microscopia em lâminas pelo método Hematoxilina-Eosina (HE), Imunohistoquímica, isolamento do protozoário através de bioensaios em camundongos ou cultura em células, testes sorológicos de detecção de anticorpos como de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Aglutinação Direta, Imunoabsorção Enzimática (ELISA), Imunocromatografia Indireta e Immunoblot, como também testes diretos, como a detecção de DNA parasitário por técnicas biomoleculares através da Reação em Cadeia de Polimerase (DUBEY e SCHARES, 2006).

3.3.5 Prevenção

N. caninum vem sendo a causa de aborto em bovinos e causa da doença clínica em cães em praticamente todo o mundo (DUBEY e SCHARES, 2011). O impacto econômico da infecção por esse parasito está relacionado tanto ao valor dos fetos abortados, como a redução da vida produtiva da vaca, aumento do tempo de lactação e possíveis quedas na produção de leite (REICHEL et al., 2013).

Em relação as medidas de prevenção e controle da neosporose, essas são muitas vezes consideradas inviáveis economicamente. Cardoso et al. (2012), afirmam que a presença do cão é considerado um fator de risco para a transmissão horizontal dentro de um rebanho. Pode ser feito a remoção de resíduos de abortamentos do pasto, adoção de medidas para minimizar a contaminação fecal de água e alimentos por cães e outros canídeos, evitar a introdução de animais infectados no rebanho e descarte dos infectados (DUBEY, 2003).

Em rebanhos bovinos com alta prevalência, em que o descarte de todos os animais soropositivos é economicamente inviável, sugere-se evitar a utilização de

novilhas positivas para reprodução (WOUDA, 2000). Uma vacina para bovinos feita a partir de taquizoítos inteiros inativados (Bovilis Neoguard®, Intervet), que tem como objetivo diminuir a taxa de abortamentos por neosporose, está comercialmente disponível no mercado (BIELSA et al., 2004). Também foi demonstrado que a transferência de embriões previne a transmissão transplacentária de uma vaca soropositiva para os seus bezerros, sendo indispensável o uso de uma receptora não infectada (LANDMANN et al., 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de estudo

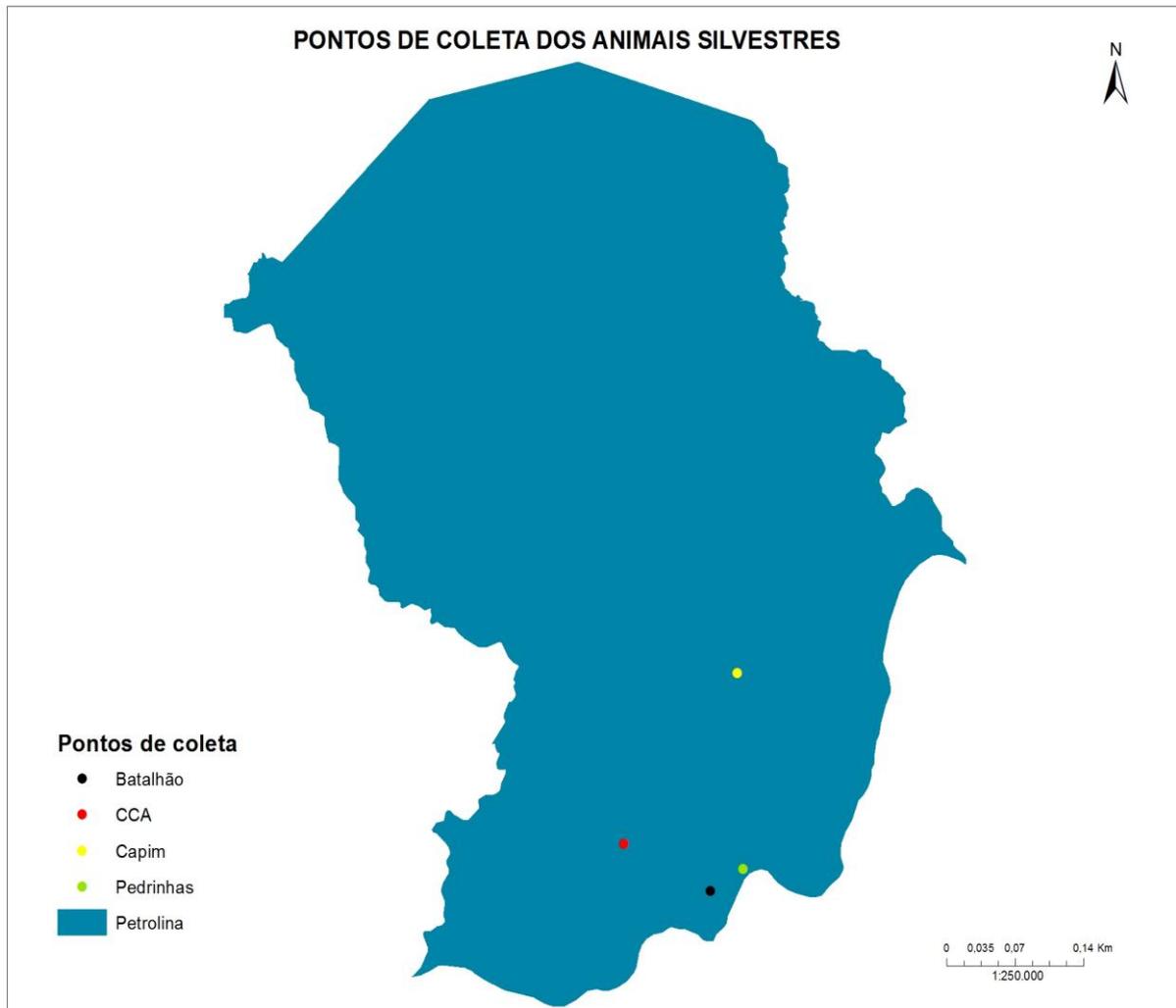
O presente estudo foi conduzido no município de Petrolina ($9^{\circ}23'55''$ Sul, $40^{\circ}30'03''$ Oeste), no Estado de Pernambuco, com área territorial de 4.756,8 Km², população humana de 294.081 mil habitantes. Situado na região do Vale do São Francisco apresentando clima tropical semiárido (Figura 1). O município está situado no bioma Caatinga, que é um mosaico de xerófila, arbustos espinhosos e floresta que cobre grande parte do Nordeste do Brasil e parte de Minas Gerais. Ela se estende por cerca de 735.000 km². Esse bioma é caracterizado por uma irregularidade de chuvas de ano para ano, resultando em severas secas (LEAL et al., 2005).

Figura 1- Representação do estado do Pernambuco e do município de Petrolina.

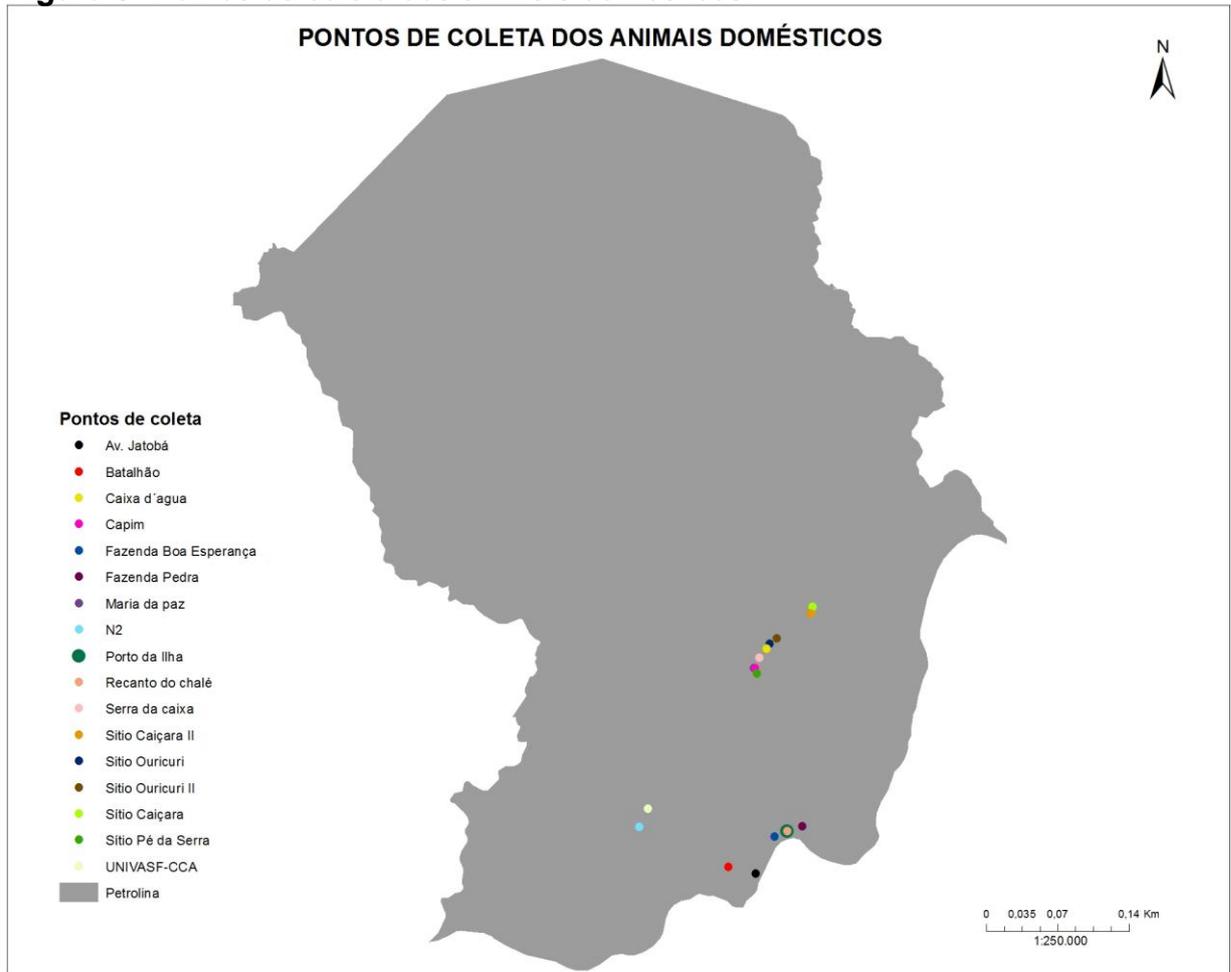


Foram realizadas quatro coletas no município de Petrolina no período de agosto de 2014 a abril de 2015, sendo cada área estudada visitada apenas em um único período durante a pesquisa. Os locais de captura dos mamíferos silvestres foram selecionados conforme a viabilidade da alocação das armadilhas e da boa disponibilidade de vegetação. As áreas de coleta compreenderam quatro pontos: UNIVASF-CCA, Capim, Pedrinhas e Batalhão 72^o BIM (Figura 2).

Figura 2- Locais de coleta de mamíferos silvestres.



Para a coleta dos mamíferos domésticos foram selecionadas propriedades adjacentes aos pontos de coleta dos mamíferos silvestres, compreendendo 17 propriedades: UNIVASF-CCA, Sítio Ouricuri, Sítio Ouricuri II, Caixa D'água, Jatobá, Porto da Ilha, Fazenda Pedra, Sítio Pé de Serra, Recanto do Chalé, N2, Batalhão 72º BIM, Capim, Fazenda Boa esperança, Sítio Caiçara, Sítio Caiçara II, Serra da Caixa e Sítio Maria da Paz (Figura 3).

Figura 3- Pontos de coleta dos animais domésticos.

4.2 Mamíferos silvestres

As coletas foram a cada estação do ano, com duração de quatro noites consecutivas, para captura de pequenos roedores e marsupiais. Foram utilizadas 92 armadilhas do tipo “Tomahawk” (45x16x16 cm) e/ou “Sherman” (30x8x9 cm e 43x12,5x14,5 cm), iscadas com farinha de milho, sardinha, paçoca de amendoim, banana e abacaxi e dispostas em áreas sombreadas próximas à árvores (Figura 4). A manipulação dos mamíferos silvestres foi realizada atendendo os princípios de biossegurança. Inicialmente foi feita a contenção física com auxílio de luvas de raspa; pesagem e posterior contenção química com a utilização do anestésico cloridrato de cetamina (Dopalen®, Vetanarcol®), na dosagem de 100mg/kg (CUBAS et al., 2014) para roedores.

Figura 4 - Alocação de armadilhas do tipo Sherman (A) e Tomahawk (B).



A colheita sanguínea dos marsupiais e roedores foi realizada pela punção intra cardíaca e/ou caudal; com agulhas 25x7 mm e seringas descartáveis. Parte do sangue obtido foi colocado em tubos sem anticoagulante visando a obtenção de soro para realização do Teste de Aglutinação Modificada (MAT); e outra parte colocados em tubos com EDTA e posteriormente aliquotados em tubos de 1,5 ml e estocado a 20°C negativos, visando a realização da PCR.

Os animais foram identificados com o auxílio do guia de identificação de mamíferos silvestres (GARDNER, 2007; BONVICINO et al., 2008; REIS et al., 2011) marcados pela raspagem de pelos, não sendo necessária uma marcação definitiva, pois as coletas foram realizadas em lugares distintos. Em seguida foram fotografados e todas as informações referentes à data de captura, localização geográfica, espécie, sexo, peso, quantidade de anestésico utilizada e descrição morfológica, foram devidamente anotadas, posteriormente foi realizada a soltura no mesmo local onde foram capturados. De acordo com a metodologia descrita por Santana (2006), o esforço de captura foi calculado com base na fórmula: $EC = NA \times ND$, em que EC = esforço de captura; NA = número de armadilhas utilizadas; ND = número de dias de captura. O sucesso de captura foi obtido a partir da fórmula $SC = NC/EC \times 100$, onde SC = sucesso de captura; NC = número de capturas; EC = esforço de captura. A captura e manipulação de mamíferos silvestres foram autorizadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), por meio do protocolo 45764-1.

4.3 Mamíferos domésticos

A colheita de animais domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) ocorreu em propriedades existentes de criadores que moram em povoados próximos aos locais de captura dos animais silvestres. Após contenção, antissepsia dos animais, foi realizada a colheita de sangue. As amostras de sangue dos ovinos e caprinos foram obtidas através da venopunção da veia jugular e dos cães e gatos por venopunção da veia cefálica, radial e/ou jugular, através de agulhas para coleta a vácuo 25 x 8 mm, colocadas em tubos sem anticoagulante e armazenadas em isopor com gelo até a centrifugação. O sangue total obtido de cada um dos animais foi aliqotado em tubos de 1,5 ml e estocado a 20°C negativos até o momento do processamento.

4.4 Diagnóstico Sorológico

4.4.1 Teste de Aglutinação Modificada (MAT)

A diluição dos soros (1:25, 1:50, e 1:500) dos animais silvestres foi realizada em microplaca usando solução salina tamponada, pH 7,2 (NaCl 0,146M; NaH₂PO₄ 0,0026M; Na₂HPO₄ 0,008M), filtrada em membrana de 45 µm de porosidade. Foi preparada a solução para diluição do antígeno; composta de 2,5mL de solução salina tamponada, pH 8,95 (NaCl 0,12M; 0,12 H₃BO₃ 0,05M; NaN₃ 0,03m; albumina sérica bovina para uma solução uso a 0,4%), 35µL de mercaptoetanol 0,2M e 50µL de Azul de Evans 0,2%. Em seguida, foi acrescido 100µL de antígeno-estoque (taquizoítos inteiros fixados em formalina). Em seguida essa mistura foi homogeneizada e distribuída imediatamente em uma microplaca com fundo em “U”, resultando em 25µL de reagentes por poço. Os soros diluídos foram transferidos para essa microplaca e misturados aos reagentes. A placa foi selada com plástico adesivo para evitar evaporação e incubada durante a noite em estufa a 37° C. A formação de um botão de contorno definido na base do poço da placa foi anotada como resultado negativo; um carpete completo ou um véu de contorno pouco definido foi anotado como positivo (DESMONTS e REMINGTON, 1980). Os animais com títulos maiores ou iguais a 25 foram considerados positivos (WERRE et al.,

2002; KLUN et al., 2005). Em todas as reações foram usados controles positivo e negativo.

4.4.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

4.4.2.1 *Toxoplasma gondii*

O teste foi realizado segundo protocolo de Camargo (1974). Inicialmente os soros foram diluídos em solução tampão (PBS pH 7,2) na proporção 1:64, em seguida 20 µL dos soros diluídos foram colocados em cada poço de uma lâmina já sensibilizada com antígeno de *T. gondii* produzido no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade de São Paulo. Posteriormente foi incubada em estufa a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Em seguida foi realizada a lavagem das lâminas com a mesma solução tampão, durante 10 minutos, por três vezes. Depois da secagem das lâminas à temperatura ambiente, foram adicionados nos poços 20 µL de uma solução contendo conjugado específico para cada espécie diluído a 1:400 em PBS pH 7,2 contendo azul de Evans a 0,001%. As lâminas foram novamente incubadas a 37°C durante 30 minutos em câmara úmida, submetidas às três lavagens e secas à temperatura ambiente sob proteção da luz. Em seguida foi feita montagem da lâmina com glicerina tamponada pH 8,0 e lamínula para posterior leitura no microscópio de fluorescência no aumento de 63 x. Soros controles positivo e negativo foram adicionados em cada lâmina, sendo considerados positivos os poços que apresentaram taquizoítos com fluorescência periférica total e homogênea. Os soros positivos na diluição 1:64 para caprinos e ovinos e 1:16 para cães e gatos foram diluídos sucessivamente e submetidos à RIFI, conforme protocolo já descrito, para titulação.

4.4.2.2 *Neospora caninum*

A reação foi feita segundo Dubey et al. (1988b). Os soros foram diluídos a 1:50 (HELMICK et al., 2002) em PBS pH 7,2 acrescida de soroalbumina bovina 1% (0,147M NaCl, 0,0018M NaH₂PO₄, 0,0084M Na₂HPO₄) e 20 µL do soro diluído foram depositados nas lâminas já sensibilizadas, as quais foram então incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Em seguida, foram feitas três lavagens de cinco

minutos cada com solução tampão carbonatada pH 9,0 (0,145M NaCl, 0,108M Na₂CO₃, 0,4M NaHCO₃) e adicionado o conjugado anti-IgG a 1:600 em solução de PBS pH 7,2 contendo azul de Evans a 0,001%. As lâminas foram incubadas novamente a 37°C por 30 minutos e depois submetidas novamente às três lavagens já citadas. Após secagem à temperatura ambiente sob proteção da luz, em seguida foi feita montagem da lâmina com glicerina tamponada pH 8,0 e lamínula para posterior leitura no microscópio de fluorescência no aumento de 63 x. Em cada lâmina foram utilizados soros controle positivo e negativo de ovinos para *Neospora caninum*. Soros positivos à diluição 1:50 foram submetidos à titulação para obtenção do título.

4.5 Diagnóstico Molecular

4.5.1 Extração de DNA

A extração de DNA sanguíneo foi realizada a partir de amostras de sangue dos animais silvestres, utilizando-se kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, Madison, WI, USA).

4.5.2 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

4.5.2.1 *Neospora caninum*

Para a realização da *nested-PCR single tube* de 25µL foi utilizada a mistura dos *primers*, água, dNTP, MgCl₂, tampão, Taq e DNA. As concentrações e especificações podem ser visualizadas nos quadros 1 e 2.

Quadro 1. Oligonucleotídeos utilizados na *nested-PCR single tube* para detecção da infecção por *N. caninum*.

Agente	Primers	Gene	Sequência de Nucleotídeos	Tamanho do produto
<i>Neospora caninum</i> (a)	NF1	ITS1	(5'-GCGTGATATACTACTCCCTGT-3')	146pb
	NS2		(5'-CATGTGGATATTTTGCA-3')	
	NR1		(5'-AAACTCCTGGAAGTTAAAG-3')	
	SR1		(5'-AAATAACGGTGTGGGAAAA-3')	

(a)Ellis et al. 1999

Quadro 2. Concentração dos reagentes utilizados na Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para *N. caninum*.

Reagentes	Volume	Concentração
Tampão Buffer 10X	2,5µL	1 Mm
Nucleotídeos trifosfatados (dNTP 1,25 mM)	4,0µL	1,6 Mm
MgCl ₂ (50 mM)	0,75µL	1,5mM
Primer 1 (10 µM)	1,25µL	0,5µM
Primer 2 (10 µM)	1,25µL	0,5µM
Primer 3 (10 µM)	1,25µL	0,5µM
Primer 4 (10 µM)	1,25µL	0,5µM
Taq <i>platinum</i> (5000 U/mL)	0,15µL	0,75 U
H2O MiliQ	11,6	-
Amostra de DNA	1,0µL	-
Total	25 µL	

A cada reação de PCR foi incluído um controle positivo e como controle negativo foi usado água MiliQ ultrapura.

O programa utilizado para *nested-PCR single tube* foi de acordo com o protocolo descrito por Ellis (1999): a reação foi realizada a 95°C por 5 minutos, 5 ciclos de 94°C por 30 segundos, 60°C por 150 segundos, 72°C por 30 segundos; 15 ciclos de 88°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos; 10 ciclos de 88°C por 30 segundos, 54°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos; 25

ciclos de 86°C por 30 segundos, 54°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos e para extensão final 72°C por 10 minutos.

4.5.2.2 *Toxoplasma gondii*

Para a realização da *nested*-PCR de 25µL foi utilizada a mistura de *primers*, água, dNTP, MgCl₂, tampão, Taq e DNA. As concentrações e especificações podem ser visualizadas nos quadros 3 e 4. Na primeira reação da *nested*-PCR foi utilizado *primers* T1 e T2 e na segunda T3 e T4.

Quadro 3. Oligonucleotídeos utilizados na *nested*-PCR para detecção da infecção por *T. gondii*

Agente	Primers	Gene	Sequência de Nucleotídeos	Tamanho do produto
<i>Toxoplasma gondii</i> (a)	T1	B1	(5'-AGCGTCTCTCTTCAAGCAGCGTA-3')	155pb
	T2		(5'-TCCGCAGCGACTTCTATCTCTGT-3')	
	T3		(5'-TGGGAATGAAAGAGACGCTAAT GTG-3')	
	T4		(5'-TTAAAGCGTTCGTGGTCAACTATCG-3')	

(a)Yai et al. 2003

Quadro 4. Concentração dos reagentes utilizados na Reação em Cadeia pela polimerase (PCR) para *T. gondii*.

Reagentes	Volume	Concentração
Tampão Buffer 10X	2,5µL	1 mM
Nucleotídeos trifosfatados (dNTP 1,25 mM)	4,0µL	1,6 mM
MgCl ₂ (50 mM)	0,75µL	1,5mM
Primer 1 (10 µM)	1,25µL	0,5µM
Primer 2 (10 µM)	1,25µL	0,5µM
Taq <i>platinum</i> (5000 U/mL)	0,15µL	0,75 U
H2O MiliQ	14,1	-
Amostra de DNA	1,0µL	-
Total	25 µL	

A cada reação de PCR foi incluído um controle positivo (cepa RH de taquizoítos para *T. gondii*) e como controle negativo foi usado água MiliQ ultrapura. O protocolo utilizado para *nested*-PCR foi o descrito por Yai et al. (2003). A PCR foi realizada com 25 ciclos a 94°C por 45 segundos, 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto e a *nested*-PCR foi realizada com 35 ciclos a 94°C por 45 segundos, 55°C por 1 minuto e a extensão final a 72°C por 10 minutos.

Após a amplificação do DNA, o produto da PCR foi corado com *Blue Green Loading Dye*, plotado em gel de agarose 1,5% e colocado em cuba de eletroforese com tampão Tris-acetato-EDTA (1X), para posterior visualização em transluminador sob a luz ultravioleta.

4.6 Georreferenciamento

Os pontos dos locais onde foram colocadas as armadilhas, assim como as propriedades de caprinos, ovinos, cães e gatos; foram obtidos com auxílio de GPS para confecção de mapas georreferenciados (ArcGis®), apontando os animais soropositivos e soronegativos verificados no presente estudo.

4.7 Aplicação de questionário

No momento da colheita de sangue, um questionário sanitário foi aplicado objetivando a identificação de possíveis fatores de risco para Toxoplasmose e Neosporose.

O questionário referente aos caprinos e ovinos continham variáveis como raça, idade, sexo, tipo de terreno onde vivem, número de animais, sistema de criação, vacinação, vermifugação, frequência de limpeza do ambiente, se tem contato com cão ou gato, presença de problemas reprodutivos, se tem contato com plantas tóxicas e animais silvestres e se tem assistência veterinária.

Para obter informações sobre os cães e gatos foi aplicado um questionário para os proprietários com as seguintes variáveis: raça, idade, sexo, se o animal come carne crua, contato com mata/caatinga, se são vacinados e vermifugados e se tem assistência veterinária.

4.8 Análise estatística

Para análise univariada foi utilizado o teste do Qui-Quadrado e o Teste Exato de Fisher. As variáveis que foram significantes na univariada foram selecionadas para análise multivariada pela regressão logística (HOSMER e LEMESHOW, 2000).

4.9 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas (CEDEP) pelo protocolo nº 0010/021014.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Mamíferos Silvestres

Foram realizadas quatro visitas no município Petrolina, totalizando 60 animais silvestres capturados (Tabela 2). O sucesso de captura registrado foi baixo (4%), como verificado nos resultados obtidos no semiárido da Bahia de 0,5%, em Vitória de 1,4% e em Pesqueira-PE de 6,6% (FREITAS et al., 2005; CALDARA JÚNIOR e LEITE, 2007; NASCIMENTO et al., 2013). Com relação ao esforço de captura, observou-se o número de 1.488 armadilhas-noite que foi semelhante ao número obtido por Guimarães et al. (2014) que foi de 1.198 armadilhas-noite no Parque Nacional da Serra das Confusões no Piauí (PNSC - dados não publicados). O sucesso de captura encontrado por Guimarães foi semelhante (6,1%) ao obtido no presente estudo, demonstrando que o estado de preservação da área não afeta esse resultado. O PNSC também faz parte do Bioma Caatinga e é caracterizado por uma área preservada diferente da área explorada em Petrolina, que é considerada como degradada e com ativa presença humana.

Tabela 2 - Número de animais silvestres capturados no município de Petrolina, PE.

Local	Estação do ano	Rodentia	Marsupialia	Total
Batalhão	Inverno	10	1	11
Univasf-CCA	Primavera	8	2	10
Capim	Verão	9	5	14
Pedrinhas	Outono	1	24	25
Total		28	32	60

Os estudos da Toxoplasmose e Neosporose em marsupiais e roedores na Caatinga da região do Vale do São Francisco são inexistentes. A pesquisa permitiu conhecer uma amostragem da fauna de pequenos mamíferos silvestres. Os 60 mamíferos silvestres pertenciam a duas ordens e a cinco espécies (Tabela 3). Dentre os animais capturados, 46,7% (28/60) eram roedores e 53,3% (32/60) marsupiais. A maioria dos roedores capturados pertencia à espécie *Thrichomys apereoides* (Punaré) que segundo Streilen (1982), nos biomas Caatinga e Cerrado

os Punarés são frequentemente encontrados em formações graníticas, incluindo lajeiros planos e pequenas elevações o que caracterizava as nossas áreas de coleta. Com relação aos marsupiais, a espécie mais representativa foi *Didelphis albiventris* (Gambá-da-orelha-branca).

Foram capturados animais em todos os pontos de coleta. O maior número de espécies capturadas foi verificado em Pedrinhas (25 animais) no outono, e o menor na Univasf-CCA (10 animais) na primavera. O menor número de capturas pode estar relacionado, dentre outros fatores, a uma menor atratividade dos animais pelas iscas no período de maior disponibilidade de alimentos (VIEIRA, 1997). Devido o ponto de coleta na Univasf-CCA ter uma intensa circulação humana e por ser uma estação do ano considerada quente, pode ter influenciado no resultado na primavera. O bairro Pedrinhas está localizado em uma área com boa disponibilidade de água por causa da localização próxima às margens do rio São Francisco, favorecendo um maior número de felídeos na região e assim, havendo uma maior exposição dos gambás aos oocistos. Esse ponto de coleta também pode ser considerado favorável para a manutenção dos oocistos por possuir uma boa área de sombreamento arbóreo e umidade.

Tabela 3 - Ocorrência de mamíferos domésticos de acordo com a ordem e espécie.

Ordem	Espécies	Nº de animais/total	Ocorrência (%)
Rodentia	<i>Galea spixii</i>	2/28	7,1%
	<i>Thrichomys apereroides</i>	24/28	85,8%
	<i>Wiedomys pyrrhorhinus</i>	2/28	7,1%
Marsupialia	<i>Didelphis albiventris</i>	27/32	84,4%
	<i>Monodelphis domestica</i>	5/32	15,6%

Dentre os roedores foram identificadas as espécies *Thrichomys apereoides* (Punaré), *Galea spixii* (Preá), *Wiedomys pyrrhorhinus* (rato do nariz vermelho). Os marsupiais identificados representaram as espécies *Monodelphis domestica* (Cuíca do rabo curto) e *Didelphis albiventris* (Gambá-da-orelha-branca) (Figura 5).

Figura 5 - Mamíferos silvestres capturados. (A) *Galea spixii*; (B) *Wiedomys pyrrhorhinus*; (C) *Monodelphis domestica*; (D) *Didelphis albiventris*; (E) *Thrichomys apereoides*.



5.1.1 Teste de Aglutinação Modificada - MAT

Os roedores apresentam um alto impacto na prevalência da Toxoplasmose em felídeos (AFONSO et al., 2007). Nesse estudo não foi encontrado anticorpos em nenhuma espécie de roedor. No entanto, observou-se a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em dois *D. albiventris*, representando 3,3% (2/60) do total dos mamíferos silvestres pelo MAT com título igual a 25. A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* entre os animais da ordem Marsupialia foi de 6,3% (2/32) e dentro da espécie (*D. albiventris*) foi de 7,4% (2/27). Fornazari et al. (2011), encontraram uma prevalência semelhante de 5,5% de *D. albiventris* em Botucatu, SP. Siqueira et al. (2013) referiram resultados semelhantes de 6,7% (15/223) em um estudo realizado com marsupiais na cidade de Recife, Pernambuco. Yai et al. (2003) acharam prevalência altas de 20,4% em marsupiais em São Paulo, respectivamente. O hábito de se alimentar da carne de animais silvestres é comum na região estudada,

e segundo Tenter et al. (2000), esses animais são uma importante fonte da infecção para os humanos.

5.1.2 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

As 60 amostras de sangue dos animais silvestres foram submetidos à extração de DNA e em seguida à PCR apresentando resultado negativo para *T. gondii* e *N. caninum*. Corroborando com Pena et al. (2006) que afirmaram que a pesquisa direta pelo sangue é viável na fase aguda da doença, no qual o agente está circulante. A infecção no sangue ocorre na fase aguda com taquizoítas e segundo Fournier et al. (2014) a PCR pode ser considerada inadequada para diagnóstico molecular em casos crônicos de infecção, mesmo assim, eles encontraram duas amostras positivas para *T. gondii*, das 53 amostras avaliadas. Tsutsui et al. (2007) afirmaram que o bioensaio em camundongos é considerado mais eficaz do que a PCR. Como os animais do presente estudo seriam soltos após os procedimentos, não foi possível realização de colheita de órgãos para diagnóstico molecular mais apropriado.

5.2 Mamíferos domésticos

O estudo foi realizado com amostras sanguíneas de 174 caprinos, 179 ovinos, 56 cães e 32 gatos (figura 6) das áreas/propriedades próximas aos locais de coleta dos mamíferos silvestres (Tabela 4).

Figura 6 - Mamíferos domésticos. (A) gato; (B) cão; (C) ovelha; (D) cabra.



Tabela 4 - Número de mamíferos domésticos amostrados nas áreas adjacentes às áreas de captura dos silvestres.

N° da propriedade	Propriedade	Caprinos	Ovinos	Cães	Gatos
1	Univasf-CCA	59	40	12	4
2	Caixa d'água	13	20	1	0
3	Batalhão	0	0	12	6
4	Porto da Ilha	37	0	19	12
5	Fazenda Boa Esperança	0	0	1	1
6	Capim	0	20	3	0
7	Sítio Maria da paz	0	0	1	0
8	Serra da caixa	0	0	1	0
9	Sítio Caiçara II	0	0	1	0
10	Sítio Ouricuri II	0	0	1	9
11	Sítio Ouricuri	35	14	1	0
12	Sítio Caiçara	0	0	3	0
13	Jatobá	0	24	0	0
14	Fazenda Pedra	10	0	0	0
15	Sítio Pé de Serra	20	0	0	0
16	Recanto do Chalé	0	41	0	0
17	N2	0	20	0	0
Total		174	179	56	32

5.2.1 Caprinos

Quanto a faixa etária, 45,9% (80/174) dos caprinos tinham entre seis meses e um ano de idade e 54,1% (94/174) tinham mais que um ano de idade. Do total dos caprinos, 38,5% (67/174) eram machos e 61,5% (107/174) fêmeas. Com relação à raça, 66,1% (115/174) dos animais era sem raça definida, 33,9% (59/174) pertenciam à categoria com raça definida. Quanto ao sistema de criação, 33,9% (59/174) eram criados de forma intensiva e 66,1% (115/174) de maneira semi-intensiva.

5.2.2 Ovinos

Quanto a faixa etária, 31,8% (57/179) dos ovinos tinham entre seis meses e um ano de idade e 45,8% (82/179) tinham mais que um ano e menos que três anos e 21,8% (39/179) tinham mais que três anos de idade. Do total dos ovinos, 71,5% (128/179) eram machos e 28,5% (51/179) fêmeas. Com relação à raça, 96,6% (173/179) dos animais eram sem raça definida e 3,4% (6/179) com raça definida. Quanto ao sistema de criação, 22,3% (40/179) eram criados de forma intensiva e 77,7% (139/179) de maneira semi-intensiva.

5.2.3 Cães

Aproximadamente 32,1% (18/56) dos cães apresentavam idade entre seis meses e um ano de idade; 32,1% (18/56) entre um ano e três anos; e 35,7% (20/56) acima de três anos de idade. Do total dos cães, 35,7% (20/56) eram machos e 64,3% (5/20) fêmeas. Todos os cães amostrados eram sem raça definida.

5.2.4 Gatos

Em relação à faixa etária, 31,2% (10/32) tinham entre seis meses e um ano de idade, 43,8% (14/32) pertenciam ao grupo dos gatos com idade entre um e três anos, 9,4% (3/32) tinham mais que três anos e 15,6% (5/32) cabiam ao grupo sem informação. De acordo com o sexo, 3% (1/32) eram machos e 47% (15/32) fêmeas. Dos gatos amostrados, 81,3% (26/32) eram sem raça definida e 18,7% (6/32) eram da raça siamesa.

5.3 Sorodiagnóstico para *Toxoplasma gondii* em animais domésticos

5.3.1 Caprinos

A prevalência encontrada para a infecção por *T. gondii* no presente trabalho, foi baixa (6,9% - 12/174) e as titulações obtidas variaram de 64 a 256 (tabela 5). Resultado semelhante foi encontrado em outra região do país, como no estado do Maranhão, em que a prevalência foi de 4,3% (MORAES et al., 2011). Outro trabalho realizado na Paraíba, nordeste do Brasil, também encontrou uma baixa prevalência

de 3,7% (DA SILVA et al., 2015). Porém, outro estudo realizado no nordeste mostrou uma alta prevalência de 47,6% em mesorregiões do estado do Pernambuco (BISPO et al., 2011). Silva et al. (2003) encontraram uma prevalência com valor superior de 40,4% em duas regiões do estado do Pernambuco; no Ceará, Cavalcante et al. (2008) observou uma frequência de 25,1%. Mainard et al. (2003) obtiveram 14,5% em São Paulo. Neto et al. (2008) no Rio Grande do Norte observou uma prevalência de 30,6%, Figueiredo et al. (2001) em Uberlândia encontrou 19%, Uzêda et al. (2004) na Bahia 16,4%.

Tabela 5 – Frequência de anticorpos anti- *T. gondii* em caprinos considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:64	11	91,7%
1:256	1	8,3%
Total	12	100%

Prevalências entre regiões distintas ou até mesmo numa mesma região podem variar de acordo com diferentes temperaturas e umidade, as condições sanitárias das propriedades, o teste sorológico que foi empregado e ponto de corte, além das características dos animais amostrados e da presença do hospedeiro definitivo (UENO et al., 2009; TENTER et al., 2000). O fator temperatura tem grande importância devido a grande diversidade climática dentro do país.

Os caprinos assumem um importante papel na cadeia epidemiológica da toxoplasmose. A transmissão zoonótica através do consumo da carne caprina pode acarretar problemas de saúde pública como também perdas econômicas nos rebanhos (DUBEY et al., 2008; DUBEY et al., 2011b; FIGUEIREDO et al., 2001). Considerando Petrolina como uma cidade conhecida pelo intenso consumo da carne caprina e ovina, saber a epidemiologia da toxoplasmose é de grande importância para saúde pública e economia local.

Dos caprinos com idade entre seis meses e um ano 3,8% (3/80) foram reagentes e os animais com idade superior a um ano apresentaram uma maior prevalência 9,6% (9/94), mas não foi considerado um dado significativo na análise univariada. Estudos defendem que quanto mais velho o animal, maior o risco da infecção por *T. gondii* devido um maior tempo de exposição ao agente. Cavalcante et al. (2008) observou um alta prevalência (50,4%) em animais com idade acima de

três anos. O mesmo resultado foi encontrado por Anderlini et al. (2011b) em animais com idade acima de 12 anos. Modolo et al. (2008) observou que os animais com idade entre um e quatro anos e maior que quatro foram mais prevalentes.

O gênero também foi considerado um dado significativo na análise univariada, no qual a maior prevalência foi encontrada nas fêmeas 10,3% (11/107) do que machos 1,5% (1/67) corroborando com o trabalho de Silva et al. (2003) que verificou 43,8% das fêmeas sororreagentes. Cavalcante et al. (2008) não encontraram diferença entre os gêneros. O que justifica as fêmeas serem mais prevalentes é o fato de que, geralmente, elas passam mais tempo no rebanho do que os machos, pois são criadas com a finalidade de produção de leite ou recria, no caso dos machos, são mais comumente criados para corte. Outro fator que pode influenciar é a questão hormonal, principalmente na fase reprodutiva, uma vez que as fêmeas encontram-se imunossuprimidas (ROBERTS et al., 2001).

A distribuição de animais soropositivos em relação à raça apresentou-se da seguinte forma: 9,6% (11/115) animais eram mestiços e 1,7% (1/59) eram com raça definida, sendo considerada uma característica significativa na análise univariada. Santos et al. (2012) verificou uma prevalência de 42,9% (3/7) dos caprinos de raça pura e 71,8% (74/103) sem raça definida na Paraíba. Cavalcante et al. (2008) encontraram proporções de 24% de raça pura, 62,7% de raças cruzadas e 13,3% sem raça definida no Ceará.

O sistema de criação é um aspecto fundamental no controle e profilaxia de doenças, visto que um rebanho que tem acesso livre a mata terá mais probabilidade de entrar em contato com oocistos excretados por felídeos silvestres e/ou domésticos. Nesse estudo, foi considerado significativo na análise univariada e a maior soropositividade sendo observada nos animais procedentes de criações semi-intensiva, apresentando 9,6% (11/115) e no sistema intensivo foi 1,7% (1/59). Cavalcante et al. (2008) no Ceará referiram que este tipo de sistema de criação também é mais utilizada naquelas regiões.

Os dados sobre a prevalência de acordo com os animais que tiveram contato com plantas tóxicas podem ser visualizados na tabela 6.

Tabela 6 - Prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em caprinos que tinham contato com plantas tóxicas.

Contato com plantas tóxicas	(%)
Sim – Angico	1/35 (2,9%)
Sim – Jurema	1/20 (5%)
Não	10/106 (9,4%)

A presença de plantas tóxicas foi pouco associado a prevalência de *T. gondii* nos caprinos e não foi considerada significativa. Santos et al. (2012) encontraram uma prevalência significativa de 88,9% (16/18) dos caprinos soropositivos que tinham contato com plantas tóxicas na Paraíba. Algumas substâncias tóxicas podem causar imunossupressão e segundo Tenter et al. (2000) a reativação da infecção em hospedeiros cronicamente infectados pode ocorrer devido fatores que ocasionem imunossupressão. Venturini et al. (1996) afirmaram que doses de 0,5 mg/kg diariamente de micotoxinas, durante 50 dias, é necessária para produzir uma intoxicação subclínica e favorecer a ruptura de cistos e consequente reativação de infecção crônica em camundongos.

Com relação a assistência veterinária, 1,7% (1/59) dos caprinos foram soropositivos e 9,6% (11/115) não tinham assistência e foram reagentes. Esse resultado foi considerado significativo pela análise univariada, e pode ser explicado pela ausência do médico veterinário em muitas propriedades, resultando na falta de informação sobre o manejo adequado dos animais. Moraes et al. (2011) no Maranhão não verificaram diferença significativa nessa variável.

Quanto a variável sobre o contato dos caprinos com cães, foi verificado em 8,8% (10/114) dos animais reagentes e que tinham esse contato. Moraes et al. (2011) não verificaram associação com a presença de cães no Maranhão.

Os problemas reprodutivos também foram avaliados, sendo que 4,3% (2/47) dos caprinos foram reagentes na RIFI, mas não apresentaram um resultado significativo pela análise univariada, o que está de acordo com Moraes et al. (2011) no Maranhão, Silva (2003) em duas regiões do estado do Pernambuco e Modolo et al. (2008) no estado de São Paulo não obtiveram resultados significativos quanto aos animais que tinham problemas reprodutivos. Essa variável tem grande importância, pois à infecção por *T. gondii*, representar um sério impacto sobre a fertilidade e reprodução dos animais envolvidos (AHMED et al., 2008).

Quanto a relação da frequência de limpeza do ambiente onde os animais viviam e a soropositividade pode ser vista na tabela 7.

Tabela 7 - Prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em caprinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.

Frequência de Limpeza	(%)
Diariamente	9/96 (9,4%)
Semanalmente	1/48 (2,1%)
Quinzenalmente	1/20 (5%)
Anualmente	1/10 (10%)

Embora possa ocorrer infecção vertical, gatos vivendo no mesmo ambiente das ovelhas favorece a infecção horizontal (SAKATA et al., 2012). A frequência de limpeza dos currais não teve diferença significativa. Importante ressaltar que a limpeza com constância diminui a circulação dos oocistos e assim, o contato dos caprinos com os mesmos.

Em relação a soropositividade dos animais que tinham contato com gato, foi encontrada uma prevalência de 19,1% (9/47) e dos que não tinham 2,4% (3/127). Esse resultado foi significativo ($p=0,001$) e considerado um fator de risco pela análise de regressão logística para Toxoplasmose. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2012) de 60% (18/30) na Paraíba e Modolo et al. (2008) 27,7% (211/762) em São Paulo. Prevalências baixas podem ser justificadas pelo pouco ou ausência de contato com oocistos liberados pelos felídeos. O odds ratio (OR) obtido (14,5) pode não refletir o risco real, uma vez que a quantidade de positivos foi pequena. No entanto, a OR foi significativa, o que indica risco.

5.3.3 Ovinos

Dos 179 ovinos examinados, 12,3% (22/179) apresentaram anticorpos anti-*T.gondii* na RIFI e as titulações obtidas variaram de 64 a 4096 (tabela 8). Sendo considerado um resultado abaixo da média, diferente do esperado pelo fato de que os ovinos costumam se alimentar de pastagens de porte baixo favorecendo a ingestão de oocistos. Segundo Kniel et al. (2002), dependendo das condições ambientais os oocistos podem permanecer viáveis por vários meses, até anos no meio ambiente. O que pode justificar o resultado é que o clima de Petrolina é muito

quente e não favorece a manutenção dos oocistos no ambiente. Alguns relatos de soropositividade encontrados no Brasil de 15,2%, 54,6%, 51,5%, 20,2%, 56,9% e 45,8% em Porto Alegre-RS (ESCOPELLI, 2004); Londrina-PR (OGAWA et al., 2003); Paraná (ROMANELLI, 2002); Rio Grande do Sul (PAPPEN, 2008); Santa Catarina (SAKATA et al., 2012) e Carneiro et al. (2009) em Minas Gerais, respectivamente.

Tabela 8 – Frequência de anticorpos anti- *T. gondii* em ovinos considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:64	7	31,8%
1:128	4	18,2%
1:256	3	13,6%
1:512	5	22,7%
1:1024	1	4,5%
1:2048	1	4,5%
1:4096	1	4,5%
Total	22	100%

Utilizando-se dos resultados sorológicos, observou-se em relação à idade que entre seis meses e um ano 10,5% (6/57) dos animais foram soropositivos, 15,9% (13/82) de um ano a três anos e 7,7% (3/39) maior de três anos, esses resultados não foram considerados significativos. Carneiro et al. (2009) referiram que caprinos com idade superior a três anos tem risco maior de infecção do que animais jovens. Esses dados estão de acordo com trabalhos de Figliuolo et al. (2004a) em São Paulo; Romanelli et al. (2007) no estado do Paraná; Carneiro et al. (2009) em Minas Gerais e Mucalane Tembue et al. (2009) na região árida do estado do Pernambuco.

Com relação ao sexo, 14,8% (19/128) das fêmeas foram sororreagentes e foi considerado significativo na análise univariada, enquanto os machos não teve significância (5,9% - 3/51). Resultados discordantes foram obtidos por Ueno et al. (2009) no Distrito Federal; Silva et al. (2003) no Pernambuco e Ragozo et al. (2008) em São Paulo, com maior soropositividade encontrada em ovinos machos.

A distribuição de animais soropositivos em relação a raça apresentou-se da seguinte forma: 12,1% (21/173) dos animais eram mestiços e foram sororreagentes e 16,7% (1/6) eram com raça definida, mas não teve significância na análise

univariada. Carneiro et al. (2009) observou uma frequência de 61,8% de raça pura, 22,8% de raças cruzadas e 15,4% sem raça definida em Minas Gerais. Sakata et al. (2012) verificou um prevalência de 50,3% nos animais de raça definida pela RIFI e 44,3% no ELISA.

Com relação ao sistema de criação dos ovinos, a soropositividade observada dos animais procedentes de criações semi-intensiva, foi de 13,7% (19/139) e no sistema intensivo foi de 7,5% (3/40), porém esses resultados foram sem significância. No estudo conduzido por Guimarães et al. (2013) todas as fazendas tinham o manejo extensivo.

Em relação a soropositividade dos animais que tinham contato com gato, foi encontrada uma prevalência de 4,2%(1/24), mas não foi significativa. No presente estudo pode-se verificar que os ovinos eram soltos na mata durante a noite, assim permitindo o contato com felídeos silvestres, apesar disso, não houve associação provavelmente pelo fato do clima muito quente que não favorece a manutenção do oocisto. Carneiro et al. (2009) afirmaram que 54,4% da fazendas estudadas em Minas Gerais tinham a presença de gatos. Guimarães et al. (2015) no Tocantins verificaram que 13,9% dos ovinos tinham contato com gatos e foram soropositivos e não verificou associação significativa. Diferente dos resultados acima, Guimarães et al. (2013) constataram que 79,2% do animais foram reagentes e tinham contato com gatos, afirmando que a presença do gato é um fator relevante na epidemiologia da Toxoplasmose (LOPES et al., 2010). Vesco et al. (2007) e Pinheiro et al. (2009) também verificaram associação. Romanelli et al. (2007) observou que o número de gatos da propriedade é um fator determinante para soropositividade. Deve-se considerar que a infecção pode ocorrer no rebanho pela forma de transmissão congênita, contudo Ogawa et al. (2003) sugerem que esta não é a principal forma de infecção, indicando que a transmissão horizontal é a mais importante.

Quanto a variável contato com cão, 16,2% (17/105) foram reagentes, considerando esse resultado significativo na análise univariada. Cães têm sido associados como potencial fator de risco para infecção por *T. gondii* em humanos devido a transmissão mecânica dos oocistos (LINDSAY et al., 1997). Guimarães et al. (2015) verificaram que 15,1% dos ovinos tinham contato com cães e não verificou diferença significativa, corroborando com Soares et al. (2009).

Foi considerada uma diferença significativa na análise univariada aproximadamente 6% (3/50) dos ovinos reagentes e com histórico de problemas

reprodutivos e 14,7% (19/129) foram reagentes e não tinham histórico. Discordando de Pinheiro et al. (2009) e Guimarães et al. (2015) que não verificaram diferença significativa em Alagoas e Tocantins, respectivamente.

Com relação a assistência veterinária, 6,2% (4/65) dos animais soropositivos tinham assistência, mas não foi significativo. Corroborando com Guimarães et al. (2015) que verificou 12,8%(17/132) dos animais sororreagentes tinham a assistência.

Os dados sobre prevalência dos animais que tiveram contato com plantas tóxicas podem ser visualizados na tabela 9.

Tabela 9 - Prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em ovinos que tinham contato com plantas tóxicas.

Contato com plantas tóxicas	(%)
Sim – Jurema	0/20 (0%)
Sim – Angico	1/14 (7,1%)
Não	21/126 (16,7%)

O contato dos ovinos com plantas tóxicas não foi considerado significativo na análise univariada. A ingestão de plantas tóxicas pode ocasionar imunossupressão no animal e segundo Tenter et al. (2000) a reativação da infecção em hospedeiros cronicamente infectados pode ocorrer devido fatores que ocasionem imunossupressão.

Quanto a relação da frequência de limpeza do ambiente onde os animais viviam com a soropositividade pode ser vista na tabela 10.

Tabela 10 - Prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em ovinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.

Frequência de Limpeza	(%)
Diariamente/semanalmente	4/74 (5,4%)
Mensalmente/2-4meses	18/85 (21,2%)

A limpeza dos currais a cada mês ou de 2 a 4 meses, foi considerada um fator de risco para Toxoplasmose pela regressão logística. Embora possa ocorrer infecção vertical, gatos que vivem no mesmo ambiente das ovelhas favorecem a infecção horizontal (SAKATA et al., 2012). Portanto, pode-se inferir que um ambiente

que é limpo diariamente ou semanalmente tem menor probabilidade de manutenção dos oocistos. O *odds ratio* (OR) obtido (14,5) pode não refletir o risco real, uma vez que a quantidade de positivos foi pequena. No entanto, o OR foi significativo, podendo indicar risco para essa variável.

A não vermifugação dos ovinos (26,2%) foi avaliada como significativa na análise univariada e após regressão logística foi considerada como fator de risco para Toxoplasmose. Pode-se inferir que animais que não são vermifugados podem ter uma alta parasitemia, podendo ocasionar imunossupressão. Como também, proprietários que não tem um cuidado de vermifugar os animais, possivelmente, não terão um cuidado com manejo sanitário, favorecendo a manutenção dos oocistos. O *odds ratio* (OR) obtido (4,5) pode não refletir o risco real, uma vez que a quantidade de positivos foi pequena. No entanto, o OR foi significativo, podendo indicar risco para essa variável.

5.3.4 Cães

Dos 56 cães examinados, 19 (33,9%) apresentaram anticorpos anti-*T. gondii* na RIFI e as titulações variaram de 16 a 64 (tabela 11). Nenhuma variável foi significativa na análise univariada. No Piauí, Lopes et al. (2011) relataram uma prevalência de 18%; Azevedo et al. (2005) verificaram 45,1% na Paraíba e Romanelli et al. (2007) no Paraná observou uma prevalência de 20,8%.

Tabela 11 – Frequência de anticorpos anti- *T. gondii* em cães considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:16	18	94,7%
1:32	0	0%
1:64	1	5,3%
Total	19	100%

Dos cães com idade entre seis meses e um ano 33,3% (6/18) foram reagentes, dentre os animais com idade superior a um ano e menor que três anos, 22,2% (4/18) apresentaram soropositividade, os cães com idade superior a três anos também apresentaram soropositividade de 45% (9/20). Dentre os machos, 38,9% (14/36) foram soropositivos e dentre as fêmeas, 25% (5/20).

Todos os cães amostrados eram sem raça definida. Com relação a cor das mucosas, 34,3% (12/35) dos cães foram sororreagentes e apresentavam coloração normal e 33,3% (1/3) apresentavam mucosas hipocoradas. Dos animais que não foi obtido essa informação 6/18 (33,3%).

Os dados sobre a prevalência de acordo com os animais que tiveram contato com mata/caatinga e que tinha hábito de caçar, podem ser visualizados na tabela 12.

Tabela 12 - Prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em cães, que tinham contato com mata/caatinga e que tinha hábito de caçar.

Variável	(%)
Contato com mata/caatinga	16/42 (38,1%)
Hábito de caça	3/6 (50%)

Dados sobre a prevalência de acordo com o tipo de alimentação dada aos cães podem ser visualizados na tabela 13.

Tabela 13 - Prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em cães, de acordo com o tipo de alimentação.

Tipo de alimentação	(%)
Comida caseira	8/19 (42,1%)
Ração	2/11 (18,2%)
Mista	5/14 (35,7%)
SI	4/12 (33,3%)

Em relação aos animais que comiam carne crua, 26,7% (4/15) foram reagentes, enquanto dos que não comiam, 20% (3/15) e dos animais que não foi possível obtermos essa informação 46,2% (12/26) foram soropositivos.

Com relação a assistência veterinária, 33,3% (3/9) dos animais soropositivos tinham assistência e 34,3% (12/35) não tinha assistência veterinária. Dos animais sem informação, 33,3% (4/12) foram reagentes.

5.3.4 Gatos

Dos 32 gatos examinados, sete (21,9%) apresentaram anticorpos anti-*T. gondii* na RIFI e as titulações obtidas variaram de 16 a 64 (tabela 14). Nenhuma variável foi significativa na análise univariada.

Tabela 14 – Frequência de anticorpos anti- *T. gondii* em gatos considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:16	4	57,2%
1:32	2	28,6%
1:64	1	14,2%
Total	7	100%

Dos gatos com idade entre seis meses e um ano 20% (2/10) foram reagentes, dentre os animais com idade superior a um ano e menor que três anos, 14,3% (2/14) apresentaram soropositividade, os gatos com idade superior a três anos também apresentaram soropositividade de 66,7% (2/3) e dos animais que não foi possível obtermos essa informação, 20% (1/5) foram soropositivos. Dentre os machos, 17,6% (3/17) foram soropositivos e dentre as fêmeas, 26,7% (4/15).

Dos gatos amostrados, 26,9% (7/26) eram sem raça definida e foram reagentes para toxoplasmose, já os gatos da raça Siamesa (6/32) não foram reagentes.

Os dados sobre a prevalência dos animais que tiveram contato com plantas tóxicas podem ser visualizados na tabela 15.

Tabela 15 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos que tinham contato com plantas tóxicas.

Contato com plantas tóxicas	(%)
Sim – Angico	1/35 (2,9%)
Sim – Jurema	0/20
Não	4/106 (3,8%)
Sem informação	0/13

Em relação aos animais que comem carne crua, 25% (4/16) foram reagentes, enquanto os que não comem, 22,2% (2/9) foram sororreagentes e dos que não foi possível obtermos essa informação, 14,3% (1/7) foram soropositivos.

Com relação a assistência veterinária, 50% (1/2) dos animais soropositivos tinham assistência e 25% (6/24) não tinha assistência veterinária. Dos animais sem informação nenhum foi reagente.

5.4 Sorodiagnóstico para *Neospora caninum* em animais domésticos

5.4.1 Caprinos

Neospora caninum é considerado a principal causa de abortos em bovinos em alguns países, podendo também causar abortos em caprinos (DUBEY, 2003; MODOLO et al., 2008). A comparação dos trabalhos realizados no Brasil e no mundo deve ser realizada com precaução por causa das diferentes técnicas utilizadas, ponto de corte e características intrínsecas de cada região.

Dos 174 caprinos examinados, cinco (2,9%) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* na RIFI. As titulações obtidas variaram de 50 a 200 (tabela 16). Figliuolo et al. (2004a) verificou uma prevalência baixa (6,4%) em São Paulo. No mesmo estado Modolo et al. (2008) encontraram uma prevalência maior de 17,4%. Faria et al. (2007) observou uma prevalência de 3,3% na Paraíba. Moraes et al. (2011) encontrou uma frequência de 17,3% no Maranhão e Silva et al. (2009) na Bahia (1,9%). Lima et al. (2008) verificou uma prevalência de 1,05% em caprinos do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Santos et al (2013) encontrou 26% dos caprinos de Monteiro na Paraíba sororreagentes. Uzêda et al. (2007) em estudos na Bahia verificou uma frequência de 15%.

Tabela 16 – Frequência de anticorpos anti- *N. caninum* em caprinos considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:50	4	80%
1:200	1	20%
Total	5	100%

Sharif et al. (2007) desenvolveram um estudo de soroprevalência em ovinos e caprinos para *T. gondii* e justificaram a baixa prevalência encontrada na espécie caprina ao fato desses animais se alimentarem das partes mais alta de gramíneas e pequenos arbustos, tendo assim, pouco contato com o solo e portanto com menor risco de ingestão de oocistos. Acredita-se que esse fato contribuiu para baixa prevalência observada neste estudo, uma vez que os animais das propriedades estudadas eram criados em sua maioria em regime semi-intensivo (115/174) e, portanto com acesso livre aos canídeos. A soropositividade observada dos animais procedentes de criações semi-intensiva foi de 4,3% (5/115). No sistema intensivo nenhum animal foi soropositivo (0/59).

Quanto a faixa etária dos caprinos, a prevalência foi de 3,8% (3/80) dos animais com idade entre seis meses e um ano e de 2,1% (2/94) nos animais maiores que um ano. Uzêda et al. (2007) demonstraram resultado no qual a maioria dos animais prevalentes (16%) pertenciam a categoria de caprinos com idade menor ou igual a seis meses. Figliuolo et al. (2004a) encontrou valores maiores em animais acima de quatro anos (9,9%), porém, não foi significativo. Segundo Anderlini et al. (2011a) pode ser mais frequente a transmissão vertical do que a horizontal na espécie caprina.

Quanto a variável sexo, 3% (2/67) dos machos e 2,8% (3/107) das fêmeas foram soropositivos. Faria et al. (2007) encontraram uma soroprevalência de 5% em machos e 2,2% em fêmeas. Jittapalaponga et al. (2005) na Tailândia, encontraram em caprinos de corte 29,7% das fêmeas reagentes e 18% dos machos e no mesmo estudo ele observou que nos caprinos de leite foi semelhante, 35,3% e 33,3% em machos e fêmeas, respectivamente. Topázio et al. (2014) encontrou 20% dos machos e 80% das fêmeas soropositivos, mas não foi significativo.

A distribuição de animais soropositivos em relação a raça foi considerado significativo na análise univariada e apresentou-se da seguinte forma: 4,3% (5/115) dos animais eram mestiços e nenhum (0/59) caprino com raça definida foi reagente. Uzêda et al. (2007) encontraram uma prevalência de 7% (3/42) em caprinos mestiços, 24% (34/144) da raça Alpina, 14% (19/134) da raça Saanen e 3% (2/64) da raça Anglo Nubiana constatando a relação entre a raça e a soropositividade. Topázio et al. (2014) verificaram uma frequência de 70% nos animais de raça mestiça, 27% nos caprinos da raça Boer e 3% da Anglo Nubiana.

No presente estudo a soropositividade foi observada apenas nos animais procedentes de criações com manejo semi-intensivo, 4,3% (5/115) e foi considerado significativo na análise univariada. No trabalho de Santos et al. (2013) foi verificada uma prevalência de 14,9% (15/101) no manejo semi-intensivo e 42,9% (3/7) no extensivo.

Em relação ao problema reprodutivo, 2,1% (1/47) foram reagentes na RIFI e tinham o histórico, mas não foi um dado significativo. Topázio et al. (2014) verificou que 23% dos animais tinham problemas reprodutivos e foram soropositivos..

Em relação a soropositividade dos animais que tinham contato com gato, foi encontrada uma prevalência de 8,5% (4/47) para os animais que tiveram contato com o gato e 0,8% (1/127) para os animais que não tiveram contato, esse resultado não foi considerado significativo na análise univariada. Corroborando com Moraes et al. (2011) no Maranhão. Esse resultado é esperado, visto que o hospedeiro definitivo da Neosporose é o cão.

A prevalência dos animais reagentes que tinham contato com cães foi de 3,5% (4/114) e não foi considerada significativa na análise univariada. No entanto, no estado de São Paulo, Figliuolo et al. (2004a) relataram uma associação entre a presença de cães e infecção *N. caninum* pelo teste do qui-quadrado. Estudos têm demonstrado relatos de abortamentos por *N. caninum* em caprinos por transmissão horizontal com fezes de cães contendo oocistos (MORENO et al., 2012; ELENI et al., 2004).

Os dados sobre a prevalência dos animais que tiveram contato com plantas tóxicas podem ser visualizados na tabela 17.

Tabela 17 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos que tinham contato com plantas tóxicas.

Variável	(%)
Sim (Angico)	1/35 (2,9%)
Sim (Jurema)	0/20 (0%)
Não	3,8% (4/106)

A presença de plantas tóxicas foi pouco associado a prevalência de *N. caninum* nos caprinos e não foi considerada significativa. Algumas substâncias tóxicas podem causar imunossupressão e segundo Tenter et al. (2000) a reativação

da infecção em hospedeiros cronicamente infectados pode ocorrer devido fatores que ocasionem imunossupressão.

Quanto a relação da frequência de limpeza do ambiente onde os animais viviam e a soropositividade pode ser visualizada na tabela 18.

Tabela 18 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.

Frequência de Limpeza	(%)
Diariamente	1/96 (1%)
Semanalmente/Quinzenalmente	1/68 (1,5%)
Anualmente	3/10 (30%)

A limpeza dos currais anualmente foi considerada um fator de risco para Toxoplasmose pela regressão logística. Pode-se inferir que um ambiente que é limpo diariamente ou semanalmente tem menor probabilidade de manutenção dos oocistos. O odds ratio (OR) obtido (40,7) pode não refletir o risco real, uma vez que a quantidade de positivos foi pequena. No entanto, o OR foi significativa, o que indica um fator de risco.

5.4.2 Ovinos

Dos 179 ovinos examinados, 39/179 (21,8%) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* na RIFI e as titulações obtidas variaram de 50 a 800 (tabela 19). Nenhuma variável foi significativa na análise univariada. Neosporose é uma doença conhecida mundialmente por afetar cães e bovinos, mas também pode causar abortos em ovelhas (BÁRTOVÁ et al., 2009). Em São Paulo, Langoni et al. (2011), Figliuolo et al. (2004b) e Romanelli (2002) verificaram uma prevalência de 12,8% 9,2% e 9,5%, respectivamente. Aguiar et al. (2004) observaram uma prevalência maior (29%) em Monte Negro, Rondônia.

Tabela 19 – Frequência de anticorpos anti- *N. caninum* em ovinos considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:50	9	23,1%
1:100	10	25,6%
1:200	8	20,5%
1:400	4	10,3%
1:800	8	20,5%
Total	39	100%

Dos ovinos com idade entre seis meses e um ano 25,9% (15/58) foram reagentes, dentre os animais com idade superior a um ano e menor que três anos, 23,2% (19/82) apresentaram soropositividade e os ovinos com idade superior a três anos, 12,8% (5/39) foram sororreagentes. Dentre os machos, 25,5% (13/51) foram soropositivos e 20,3% (26/128) das fêmeas foram reagentes.

A distribuição de animais soropositivos em relação a raça apresentou-se da seguinte forma: 22,5% (39/173) dos animais eram mestiços e foram sororreagentes e nenhum (0/6) ovinos da raça Santa Inês foi reagente.

Com relação ao sistema de produção dos ovinos, a soropositividade observada dos animais procedentes de criações semi-intensiva, foi de 20,1% (28/139) e no sistema intensivo foi de 27,5% (11/40).

Em relação a soropositividade dos animais que tinham contato com gato, foi encontrada uma prevalência de 20,8%(5/24) e dos cães de 18,1% (19/105).

Quanto a relação da frequência de limpeza do ambiente onde os animais viviam com a soropositividade pode ser vista na tabela 20.

Tabela 20 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos, segundo a frequência de limpeza da propriedade.

Frequência de Limpeza	(%)
Diariamente	11/40 (27,5%)
Semanalmente	6/35 (17,1%)
Mensalmente	5/20 (25%)
A cada 2 meses	5/23 (21,7%)
A cada 4 meses	7/41 (17,1%)
Sem informação	5/20 (25%)

Os dados sobre a prevalência dos animais que tiveram contato com plantas tóxicas podem ser visualizados na tabela 21.

Tabela 21 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos que tinham contato com plantas tóxicas.

Contato com plantas tóxicas	(%)
Sim – Algaroba	5/20 (25%)
Sim – Angico	14/14 (28,6%)
Não	28/126 (22,2%)
Sem informação	2/19 (10,5%)

Com relação a assistência veterinária, 24,6% (16/65) dos animais soropositivos tinham assistência.

5.4.3 Cães

Nenhum cão foi sororreagente para *Neospora caninum* pela RIFI. Como encontramos prevalências nos outros animais domésticos, não podemos inferir que não existe a presença do agente na região estudada. Apenas que não foi encontrado na nossa amostragem. O que pode justificar a presença de anticorpos nos outros animais é a ocorrência do ciclo silvestre da neosporose.

5.4.4 Gatos

Dos 32 gatos examinados, dois (6,3%) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* na RIFI e as titulações obtidas variaram de 100 a 400 (tabela 22). Nenhuma variável foi significativa na análise univariada.

Tabela 22 – Frequência de anticorpos anti- *N. caninum* em gatos considerando os títulos.

Título	Soropositivos	(%)
1:100	1	50%
1:400	1	50%
Total	2	100%

Dos gatos com idade entre seis meses e um ano nenhum (0/10) foi reagente, dentre os animais com idade superior a um ano e menor que três anos, 7,1% (1/14) apresentaram soropositividade, os gatos com idade superior a três anos não foram reagentes (0/3) e dos animais sem informação, 20% (1/5) foram soropositivos. Dentre os machos, 11,8% (2/17) foram soropositivos e nenhuma fêmea (0/15) foi reagente.

Dos gatos amostrados, 3,8% (1/26) eram sem raça definida e foram reagentes para neosporose e 16,7% (1/6) dos gatos da raça Siamesa foram reagentes.

Os dados sobre a prevalência dos animais que tiveram contato com mata/caatinga e que tinham hábito de caçar podem ser visualizados na tabela 23.

Tabela 23 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em gatos, que tinham contato com mata/caatinga e que tinham hábito de caçar.

Variável	(%)
Contato com mata/caatinga	2/25 (8%)
Hábito de caça	0/7 (0%)

Em relação aos animais que comem carne crua, 12,5% (2/16) foram reagentes, enquanto os que não comem (0/9) não foram reagentes, como também os que não tinham informação (0/7).

Com relação a assistência veterinária, nenhum (0/2) dos animais que tinham assistência foram soropositivos, 8,3% (2/24) não tinha assistência veterinária e nenhum dos animais sem informação foram reagentes.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos foi possível:

- Verificar a ocorrência, por meio do MAT, de anticorpos anti- *T. gondii* em *Didelphis Albiventris*;
- Confirmar a circulação de *Toxoplasma gondii* em ovinos, caprinos, cães e gatos de Petrolina, PE;
- Confirmar a circulação de *Neospora caninum* em ovinos, caprinos e gatos de Petrolina, PE;
- Determinar fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, E. et al. Toxoplasmosis in prey species and consequences for prevalence in feral cats: not all prey species are equal. **Parasitology**, v. 134, n. 14, p. 1963-1971, 2007.
- AGUIAR, D. M. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, Amazônia Ocidental brasileira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 616-618, 2004.
- ALBUQUERQUE, S. G.; BANDEIRA, G. R. L. Effect of thinning and slashing on forage phytomass from a caatinga of Petrolina, Pernambuco, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p. 885-885, 1995.
- ANDERLINI, G. A. et al. Prevalence of antibodies anti-*Neospora caninum* in goats in the State of Alagoas, Brazil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 4, p. 583-590, 2011a.
- ANDERLINI, G. A. et al. Occurrence and risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* in goats in the State of Alagoas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 157-162, 2011b.
- AHMAD YF, SOKKAR SM, DESOUKY HM, SOROR AH. Abortion due to toxoplasmosis in small ruminants. **Global Veterinaria**; 2:337–342, 2008.
- ANDERSON, M.L. et al. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.198, p.241-244, 1991.
- ANDERSON, M.L.; Andrianarivo, AG; CONRAD, P.A. Neosporose em bovinos. **Reprodução Animal Ciência**, v. 60, p. 417-431, 2000.
- AZEVEDO, S. S., et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**.v. 79, p. 51–56, 2005.
- BARR, B. C. et al. Congenital Neospora infection in calves born from cows that had previously aborted Neospora-infected fetuses: four cases (1990-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 1, p. 113-117, 1993.

_____. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 71, n. 2, p. 236-242, 1994.

BÁRTOVÁ, E., SEDLÁK, K., LITERÁK, I. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in sheep in the Czech Republic. **Veterinary Parasitology**. 161, 131–132.2009.

BIELSA, J. M.; ROMERO, J. J.; HEUER, C. Controle de Neosporose em bovinos com Bovilis® Neoguard: a experiência de campo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 34-37, 2004.

BISPO, M. S. et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em propriedades de criação de caprinos e ovinos no estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 291-297, 2011.

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Parasitology Research**, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. **Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa-OPAS/OMS**, v. 11, p.120, 2008.

BRAGA, M. S. C. et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 107-111, 2012.

BUXTON, D. et al. Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Record**, v. 141, n. 12, p. 308-309, 1997.

_____. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. **Veterinary research**, v. 29, n. 3-4, p. 289-310, 1998.

CALDARA JUNIOR, V. C.; LEITE, Y. L. R. Uso de habitats por pequenos mamíferos no Parque Estadual da Fonte Grande, Vitória, Espírito Santo, Brasil. **Museu de Biologia Mello Leitão**, Vol. 21, p. 57-77. 2007.

- CAMARGO, M.E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v.10, n.3, p.87-107, 1974.
- CAÑON-FRANCO, W. A. et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the urban area of Monte Negro, Rondônia, Brazil. **Veterinary research communications**, v. 28, n. 2, p. 113-118, 2004.
- CARDOSO, M. J. S. et al. Um estudo longitudinal da infecção por *Neospora caninum* em três explorações leiteiras no Brasil. **Parasitologia veterinária**, v. 187, n.3, p.553-557, 2012.
- CARNEIRO, A. C. A. V. et al. Seroprevalence and risk factors of caprine toxoplasmosis in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 160, n. 3, p. 225-229, 2009.
- CAVALCANTE, A. C. R. et al. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 36-41, 2008.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **TRATADO DE ANIMAIS SELVAGENS: MEDICINA VETERINARIA**. 1. ed. São Paulo: Editora Roca, v. 2. P.2431, 2014.
- DABRITZ, H. A. et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in wild rodents from central coastal California and a review of *T. gondii* prevalence in rodents. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 675-683, 2008.
- DA SILVA, J. G. et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and parasite DNA in raw milk of sheep and goats of local breeds reared in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 142, p. 145-148, 2015.
- DESMONTS, G; REMINGTON, JACK S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of clinical microbiology**, v. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.
- DIJKSTRA, TH. et al. Vias de transmissão Natural de *Neospora caninum* entre cães de fazenda e gado. **Parasitologia Veterinária**, v. 105, n. 2, p. 99-104, 2002.

DUBEY, J. P. et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988.

DUBEY, J.P. Lesions in transplacentally induced toxoplasmosis in goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.6, p.905-909, 1988a.

_____. Long term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.6, p.910–913, 1988b.

DUBEY, J. P. et al. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **The Journal of parasitology**, p. 127-130, 1990.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis: an overview. **Southeast Asian Journal Tropical Medicina Public Health**, V 22, n. sSuppl, 1991.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis. **Parasitology Today**, v. 9, p. 452-458, 1993.

DUBEY, J.P. et al. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **The Journal of parasitology**. 81, 410–415, 1995.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p.267-99, 1998.

DUBEY, J. P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. **The Journal of parasitology**, p. 957-961, 1996a.

_____. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v.64, n.1-2, p.65-70, 1996b.

DUBEY, J. P. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. **The Journal of parasitology**, v. 85, n. 5, p. 968-969, 1999.

_____. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International journal for parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean journal of parasitology**, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. **Infectious diseases of the dog and cat. New York**, p. 2, 2006.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G. Diagnóstico da neosporose bovina. **Parasitologia veterinária**, v. 140, n. 1, p.1-34, 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007.

DUBEY, J. P. The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 467-475, 2008.

DUBEY, J. P.; JONES, J. L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International journal for parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1257-1278, 2008.

DUBEY JP, SUNDAR N, VELMURUGAN GV, BANDINI LA, KWOK OCH, MAJUMDAR D, SU C. High prevalence and abundant atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from lambs destined for human consumption in the USA. **International Journal of Parasitology**, 38:1057-1063, 2008.

DUBEY, J. P. et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary parasitology**, v. 181, n. 2, p. 382-387, 2011a.

DUBEY JP, RAJENDRAN C, FERREIRA LR, MARTINS J, KWOK OCH, HILL DE, et al. High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA. **International Journal of Parasitology**, 41:827–33, 2011b.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals—the last five years. **Veterinary parasitology**, v. 180, n. 1, p. 90-108, 2011.

DUBEY, J. P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p. 1375-1424, 2012.

DUMÉTRE, A.; DARDE, M.L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 5, p. 651-661, 2003.

ELBEZ-RUBINSTEIN, A. et al. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. **Journal of Infectious Diseases**, v. 199, n. 2, p. 280-285, 2009.

ELENI, C. et al. Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat fetus. **Veterinary Parasitology**, 123, 271–274, 2004.

ELLIS, J. T. et al. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Neospora caninum* DNA. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1589-1596, 1999.

ENGELAND, I. V. et al. Effect of *Toxoplasma gondii* infection on the development of pregnancy and on endocrine foetal-placental function in the goat. **Veterinary parasitology**, v. 67, n. 1, p. 61-74, 1996.

ESCOPELLI, K. S. **Avaliação sorológica de anticorpos da classe IgG para *Toxoplasma gondii* em soros de ovinos da região da Grande Porto Alegre/RS, através das técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e imunofluorescência indireta (IFI)**. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2004.

FARIA, E. B. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 1, p. 126-129, 2007.

FEITOSA, T. F. et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in domestic cats from the Brazilian semi-arid: seroprevalence and risk factors. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 1060-1066, 2014.

FIALHO, C. G.; TEIXEIRA, M. C.; ARAUJO, F. A. P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta scientiae veterinariae**. Porto Alegre, RS. Vol. 37, n. 1 (2009), p. 1-24, 2009.

FIGLIUOLO, L. P. C. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 55, n. 1, p. 29-32, 2004a.

FIGLIUOLO, L.P.C. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 123, 161–166. 2004b.

FIGUEIREDO, J. F. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Goats by the Indirect Haemagglutination, Immunofluorescence and Immunoenzymatic Tests in the Region of Uberlândia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 687-692, 2001.

FORNAZARI, F. et al. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* among Brazilian white-eared opossums (*Didelphis albiventris*). **Veterinary parasitology**, v. 179, n. 1, p. 238-241, 2011.

_____. *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 164, n. 2, p. 333-334, 2009.

FOURNIER, G.F.S.R, et al. *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from forest fragments of the municipality of Natal, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal , v. 23, n. 4, p. 501-508. 2014.

FREITAS, R. R.; ROCHA, Pedro L. B.; SIMÕES-LOPES, P. C. Habitat structure and small mammals abundances in one semiarid landscape in the Brazilian Caatinga. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 1, p. 119-129, 2005.

FRENKEL, J. K., J. P. DUBEY, AND N. L. MILLER *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science* (Washington). 167:893, 1970.

FREYRE, A. et al. Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites, and tachyzoites of the T-263 strain of *Toxoplasma gondii*. **The Journal of parasitology**, v. 79, n. 5, p. 716-719, 1993.

GARDNER, A. L. **Mammals of South Amric Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats**. The University of Chicago Press, v. 1, 2007, p. 690.

GARCIA, J. L. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. **Ciência rural**, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.

GENNARI, S. M. *Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 23-28, 2004.

GONDIM, L. F. P. et al. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 47, n. 1, p. 35-35, 1999.

_____. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International journal for Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 159-161, 2004.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1, p. 33-39, 2005.

GUIMARÃES, F.M. **Levantamento da infecção por *rickettsia* spp. e *coxiella burnetii* em mamíferos silvestres e pequenos ruminantes na região do parque nacional da serra das confusões, piauí.**2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal Do Vale do São Francisco, Petrolina, 2014.

GUIMARÃES, L.A et al. Prevalence and risk factors associated with anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sheep from Bahia state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal , v. 22, n. 2, p. 220-224, 2013.

GUIMARÃES, A et al. Occurrences of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from four districts of Tocantins state, Brazilian Legal Amazon Region. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro , v. 35, n. 2, p. 110-114, 2015 .

HOSMER, D.W., LEMESHOW, S. (Eds.). 2000. Applied Logistic Regression. **John Wiley & Sons**, New York, 375.

HELMICK, B. et al. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. **Research in Veterinary Science**, v. 73, n. 2, p. 187-189, 2002.

IBRAHIM, H. M. et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in northern Egypt. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 80, n. 2, p. 263-267, 2009.

KING, Jessica S. et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.

KNIEL, K. E. et al. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 4, p. 790-793, 2002.

KROL, M. S. et al. The semi-arid integrated model (SIM), a regional integrated model assessing water availability, vulnerability of ecosystems and society in NE-Brazil. **Physics and Chemistry of the Earth, Part B: Hydrology, Oceans and Atmosphere**, v. 26, n. 7, p. 529-533, 2001.

JITTAPALAPONG, S. et al. Soroprevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos domésticos na província de Satun, Tailândia. **Parasitologia veterinária**, v. 127, n. 1, p. 17-22, 2005.

JONES, J. L.; DUBEY, J. P. Waterborne toxoplasmosis—recent developments. **Experimental parasitology**, v. 124, n. 1, p. 10-25, 2010.

LANDMANN, J. K. et al. Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. **Australian veterinary journal**, v. 80, n. 8, p. 502-503, 2002.

LANGONI, H. et al. Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from Sao Paulo State, Brazil **Veterinary Parasitology**, 177, pp. 50–54. 2011.

LAPPIN, M.R. Infecções protozoárias e mistas. In. ETTINGER, S.J; FELDMAN, E.C **.Tratado de Medicina Interna Veterinária**, v. 5, p. 430-440, 2004.

LEAL, I. R. et al. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of northeastern Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 701-706, 2005.

LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária UFPE, p. 822, 2003.

LINDSAY D.S., DUBEY J.P., BUTLER J.M. & BLAGBURN B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**. 73:27-33, 1997.

LIMA, J. T. R. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 2, p. 81-86, 2008.

LOPES W.D.Z., et al. Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. **Research Veterinary Science**; 88(1): 104-106, 2010.

LOPES, M. G. et al. Presence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* in dogs from Piauí. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 2, p. 111-114, 2011.

MAINARDI, Rodrigo Soares et al. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 136, p. 759-761, 2003.

MCALLISTER, M. M. et al. Rapid communication: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International journal for parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1479, 1998.

MEIRELES, L. R. et al. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. **Tropical medicine & international health**, v. 9, n. 8, p. 876-881, 2004.

MILLER, C. M. et al. The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. **International journal for parasitology**, v. 39, n. 1, p. 23-39, 2009.

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**, v. 28, n. 12, p. 606-610, 2008.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, London, v. 363, n. 9425, p.1965-1976, 2004.

MORAES, L. M. B. et al. Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 312-317, 2011.

MORENO, B. et al. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions **Veterinary Parasitology**, 187 (1–2), pp. 312–318, 2012.

MORRISSETTE, N. S.; AJIOKA, J. W. The early years of *Toxoplasma* research: What's past is prologue. **International journal for parasitology**, v. 39, n. 8, p. 865-869, 2009.

MUCALANE TEMBUE, A. A. et al. Prevalence of IgG antibodies anti *Toxoplasma gondii* in goat and sheep from dry region of Pernambuco State, Brazil. **Revista Ibero-latinoamericana de Parasitología**, v.1, p.82-85, 2009.

MURADIAN, V. et al. A survey of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in urban rodents from Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 1, p. 128-134, 2012.

NASCIMENTO, A. L. C. P.; FERREIRA, J. D. C.; MOURA, G. J. B. Marsupiais de uma área de caatinga (Pernambuco, Brasil) com registro de nova localidade para *Caluromys philander* (Linnaeus, 1758). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 4, n. 1, p. 104-110, 2013.

NETO, J. O. A. et al. Prevalence and risk factors for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte state, Northeast region of Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 156, n. 3, p. 329-332, 2008.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **CR Académie Sciences**, v. 147, n. 763, p. 763–766, 1908.

OIE - Office International des Epizooties. Toxoplasmosis. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**, 2008. Disponível em: <http://www.oie.int/Eng/Normes/Mmanual/2008/pdf/2.09.10_TOXO.pdf. > Acesso em: 15 de out. 2015.

OGAWA, L. et al. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep from the

Londrina Region of the Paraná State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.24, n.1, p.57-62, 2003.

PAPPEN FG. **Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909) em ovinos da região sul do Estado do Rio Grande do Sul** [Dissertação]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2008.

PENA, H. F. J. et al. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 147, n. 1, p. 61-66, 2007.

PENA, H. F. J. et al. *Toxoplasma gondii* infection in cats from Sao Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. **Research in veterinary science**, v. 81, n. 1, p. 58-67, 2006.

PINHEIRO JW JR, et al. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. **Parasitology Research** 105(3): 709-715, 2009.

RAGOZO AMA, et al. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from sheep from São Paulo State, Brazil. **Journal of Parasitology**, 94, 1259–1263, 2008.

REICHEL, M. P. et al. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle—the billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133-142, 2013.

REIS, N. R. et al. Mamíferos do Brasil, 2a edição. **Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brazil**, p. 439, 2011.

ROBERTS, C.W; WALKER, W; ALEXANDER, J. Sex-Associated Hormones and Immunity to Protozoan Parasites. **Clinical Microbiology Reviews** 14: 476–488, 2001.

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

ROMANELLI PR. et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research Veterinary Science**. 82(2): 202-207, 2007.

ROSA, L. D. et al. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 268-269, 2010.

ROSYPAL, A. C.; LINDSAY, D. S. The sylvatic cycle of *Neospora caninum*: where do we go from here?. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 10, p. 439-440, 2005.

SADREBAZZAZ, A.; HADDADZADEH, H.; SHAYAN, P. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in camels (*Camelus dromedarius*) in Mashhad, Iran. **Parasitology research**, v. 98, n. 6, p. 600-601, 2006.

SAKATA, F. B. L. S. et al. *Toxoplasma gondii* antibodies sheep in Lages, Santa Catarina, Brazil, and comparison using IFA and ELISA. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 196-200, Sept. 2012.

SANTANA, I. C. C. **Análise Multivariada no Estudo de Padrões na Mastofauna do bioma Caatinga**. 2006. 98f. Dissertação (Mestrado em Biometria) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

SANTOS, C. S. A. B. et al. Flock-level risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 112, n. 1, p. 239-242, 2013.

_____. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* seroprevalence in goats in the State of Paraíba, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 399-404, 2012.

SILVA, A. V. et al. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soropidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 115-119, 2003.

SILVA, A. V.; LANGONI, H. Kinetics of serum antibody in *Rattus norvegicus* experimentally infected with genetically distinct strains of *Toxoplasma gondii* bradyzoites. **Veterinária e Zootecnia**, v. 12, p. 69-76, 2005.

SILVA, J. C. R. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 102, n. 3, p. 217-224, 2001.

SILVA, M.S.A.; UZÊDA, R.S; COSTA, K.S; et al. Detection of *Hammondia heydorni* and related coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.162, n.1-2, p.156-159, 2009.

SIQUEIRA, D. B. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild marsupials and rodents from the Atlantic forest of Pernambuco state, northeastern region, Brazil. **The Journal of parasitology**, v. 99, n. 6, p. 1140-1143, 2013.

STREILEIN, K. E. The ecology of small mammals in the semiarid Brazilian Caatinga. IV. Habitat selection. **Annals of Carnegie Museum**, v. 51, p. 331-343, 1982.

SOARES, H. S. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 3, p. 211-214, 2009.

SU, C. et al. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 137, n. 01, p. 1-11, 2010.

TENTER, A.M. et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**. 30, 1217-1258, 2000.

TENTER, A. M. et al. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 5, p. 595-616, 2002.

TOPÁZIO, J. P. et al . Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in goats in Santa Catarina state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal , v. 23, n. 3, p. 360-366, Sept. 2014.

TRANAS, J. et al. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 6, n. 5, p. 765-767, 1999.

TREES, A. J. et al. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1195-1200, 1999.

TSUTSUI, V.S. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in commercial cuts of pork from experimentally infected pigs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 1, p. 30-34, 2007.

UENO T.E.H. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health Production**. 41:547-552, 2009.

UZÊDA, R. et al. Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 5, n. 1, 2004.

_____. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 70, n. 2, p. 257-259, 2007.

VESCO, G. et al. *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. **Veterinary Parasitology**, 146(1-2): 3-8, 2007.

VIANNA, M. C. B. et al. Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 3, p. 253-257, 2005.

VIEIRA, M. V. Dynamics of a rodent assemblage in a cerrado of southeast Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 57, n. 1, p. 99-107, 1997.

WOUDA, W. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 22, n. 2, p. 71-74, 2000.

YAI, L. E. O. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of São Paulo, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 4, p. 870-871, 2003.

_____. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from São Paulo State, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 766-766, 2008.