



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CÉLIA ROSIMARIE DOS REIS

SORODIAGNÓSTICO DO
Toxoplasma gondii EM CAPRINOS NO MUNICÍPIO
DE PITANGA - PARANÁ - BRASIL

Londrina – Paraná

2005

CÉLIA ROSIMARIE DOS REIS

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**SORODIAGNÓSTICO DO *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS NO MUNICÍPIO DE
PITANGA - PARANÁ - BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre.

Área de Concentração: Sanidade Animal
Orientador: Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro

Londrina – Paraná

2005

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Zoonoses e Saúde Pública e Protozoologia, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de

Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Área de Concentração Sanidade Animal, sob orientação do Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro.

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionados:

1. PROPPG: Pró - Reitoria de Pesquisa e Pós - Graduação

2. CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior

Candidata:

CÉLIA ROSIMARIE DOS REIS

Título da dissertação:

**SORODIAGNÓSTICO DO *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS NO MUNICÍPIO DE
PITANGA - PARANÁ - BRASIL**

Comissão examinadora:

Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro – Orientador – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Estadual de Londrina – Londrina

Prof. Dr. João Luis Garcia – Departamento de Ciências Biológicas – Universidade Estadual do Centro-Oeste – Guarapuava

Prof. Dr. Ademir Benedito da Luz Pereira – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Estadual de Londrina – Londrina

Londrina, 30 de setembro de 2005.

“Não há saber mais ou saber menos,
Há saberes diferentes”

Paulo Freire

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo
começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo
fim”

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

Aos meus pais Paulo e Mercedes.

Aos meus irmãos, Cid, Clóvis e Clélia, principalmente às minhas irmãs Creuza e Cleide, pelo amor sem medida e apoio nos momentos de indecisão.

Aos meus filhos Mateus e Ana Luiza, por compreenderem minha ausência em alguns momentos importantes de suas vidas.

Ao mestre e amigo, professor e orientador Dr. Itamar Teodorico Navarro, por acreditar na minha capacidade, pelo incentivo e principalmente pelo apoio nas horas difíceis.

À professora Dr^a. Roberta Lemos Freire pela amizade, dedicação, por estar sempre disponível e pela participação na banca de defesa.

A todos os professores do Programa de Mestrado em Ciência Animal, especialmente ao Prof. Dr. Amauri Alfieri pela compreensão, Prof. Dr. Odilon Vidotto pela participação na banca de qualificação e ao Prof. Dr. Ademir Benedito da Luz Pereira por participar da banca de defesa.

Ao amigo Walfrido, pela enorme amizade, apoio e incentivo, desde o ingresso na pós-graduação, até o término da mesma.

Às amigas Dani e Fabi pela grande amizade, atitudes de solidariedade e principalmente pela contribuição e esforço para o término deste trabalho.

Ao Prof. Dr. João Luis Garcia pela colaboração em parte deste trabalho e pela participação na banca de defesa.

Aos demais amigos de turma de mestrado.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva em especial a grande amiga Bete, ao amigo e colaborador Ademir, aos amigos Zé da Micro, Reinaldo e Valdecir.

Aos residentes do Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública, Regina e Mauro; aos estagiários, André, Bruno, Felipe, Andreas e Fernando, o meu muito obrigado pela colaboração e dias alegres que passamos no “lab”.

Ao secretário da pós-graduação, Nelson, pela paciência e prestatividade.

Ao pessoal da Coordenadoria de Pesquisa e Pós-graduação (CPG).

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concluído...o meu muito obrigado!

REIS, C. R. Sorodiagnóstico do *Toxoplasma gondii* em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal, Área de Concentração Sanidade Animal) – Centro de Ciências Agrárias – Universidade Estadual de Londrina – 2005.

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que tem os gatos e felídeos selvagens como hospedeiros definitivos. Os caprinos, entre os animais de produção, são uma das espécies mais suscetíveis ao *T. gondii*, sendo este um dos principais agentes envolvidos no abortamento de ovinos e caprinos, determinando grandes perdas econômicas. Este trabalho teve como objetivo verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em caprinos leiteiros naturalmente infectados, de propriedades do município de Pitanga, Paraná e avaliar o teste de aglutinação modificada para o diagnóstico da toxoplasmose caprina. Foram coletadas 282 amostras de sangue, analisadas pela imunofluorescência indireta (IFI) e pelo teste de aglutinação modificada (MAT). Obteve-se uma prevalência de 44,68% pela IFI e 23,05% pelo MAT. Os resultados obtidos mostraram diferença significativa entre os sexos, do total de positivos pela IFI (126 animais) as fêmeas apresentaram uma prevalência de 88,10% (111/126). Esta diferença se deve ao manejo diferenciado que as fêmeas recebem. Os títulos de maior frequência foram 64 (42,85%) e 4096 (30,95%) pela IFI; e 64 (64,28%) e 1024 (53,65%) pelo MAT. Na comparação dos resultados foi observada uma concordância moderada ($Kappa = 0,56$) e os resultados de sensibilidade (55%) e especificidade (96,6%) para o MAT obtidos neste estudo, permitem recomendá-lo como teste confirmatório. A alta prevalência da toxoplasmose, aliada aos altos títulos obtidos e os sinais clínicos observados nos rebanhos estudados, sugerem a doença como causa de problemas reprodutivos em rebanhos caprinos.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, caprinos, imunofluorescência indireta, teste de aglutinação modificada, problemas reprodutivos.

REIS, C. R. Serological survey of the *Toxoplasma gondii* in goats of the city of Pitanga, Paraná, Brazil. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal, Área de Concentração Sanidade Animal) – Centro de Ciências Agrárias – Universidade Estadual de Londrina – 2005.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*, that it has the wild cats and felines as definitive hosts. The goat ones, enter the production animals, are one of the species most susceptible to the *T. gondii*, that he is one of the main involved agents in the abortion of sheeps and goats, determining great economic losses. This work had as aim to verify the prevalence of antibodies anti-*T. gondii* in sera of milking goat naturally infected, of three properties of the city of Pitanga, Paraná, region where the culture of goats is in development; and to evaluate the modified agglutination test for the diagnosis of toxoplasmosis in goats. A number of 282 blood samples were collected, analyzed for the indirect immunofluorescence (IFI) and for the modified agglutination test (MAT). A prevalence of 44,68% for IFI and 23,05% for the MAT was obtained. The gotten results had shown significant difference between the sexes, of the total of positives for the IFI (126 animals) the females had presented a prevalence of 88,10% (111/126). This difference if must to the differentiated handling that the females receive. The titles of bigger frequency had been 64 (42,85%) and 4096 (30,95%) for the IFI; and 64 (64,28%) and 1024 (53,65%) for the MAT. In the comparison of the results were observed a moderate agreement ($Kappa = 0,56$) and the results of $S=0,55\%$ and $E=96.6\%$ for the MAT allow to recommend it as confirmatory test. The high prevalence of toxoplasmosis allied to the high gotten titles is in harmony with the clinical signals in the flock, proving that the illness is an important cause of reproductive problems in goat flocks.

Key-words: *Toxoplasma gondii*, goat, indirect immununofluorescence, modified aglutiination test, reproductive problems.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
Toxoplasmose em caprinos	
1.1 Introdução.....	13
1.2 Toxoplasmose em caprinos.....	15
1.3 Referências.....	19
2. OBJETIVOS.....	23
2.1 Objetivo geral.....	24
2.2 Objetivos específicos.....	24
3. ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO.....	25
3.1 Infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil	
Resumo.....	26
Abstract.....	27
3.1.1 Introdução.....	28
3.1.2 Material e Métodos.....	29
3.1.3 Resultados.....	31
3.1.4 Discussão.....	33
3.1.5 Conclusão.....	34
3.1.6 Referências.....	35
3.2 Avaliação do teste de aglutinação modificada (MAT) para a detecção de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soro de caprinos naturalmente infectados	
Resumo.....	38
Abstract.....	39
3.2.1 Introdução.....	40
3.2.2 Material e Métodos.....	41
3.2.3 Resultados e Discussão.....	42
3.2.4 Conclusão.....	43
3.2.5 Referências.....	44
4. CONCLUSÃO.....	46
5. APÊNDICE.....	47
Ficha epidemiológica – Toxoplasmose.....	47
6. ANEXO.....	49
Normas do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária.....	49

LISTA DE TABELAS

Infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil

Tabela 1. Distribuição das freqüências de títulos soropositivos obtidos pela imunofluorescência indireta em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.31

Tabela 2. Distribuição dos soropositivos e soronegativos pela imunofluorescência indireta, segundo a faixa etária, em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.32

Tabela 3. Distribuição dos soropositivos e soronegativos pela imunofluorescência indireta, de acordo com o sexo, em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.32

Avaliação do teste de aglutinação modificada (MAT) para a detecção de anticorpos anti - *Toxoplasma gondii* em soro de caprinos naturalmente infectados

Tabela 1. Resultados soropositivos e soronegativos obtidos pela imunofluorescência indireta e pelo teste de aglutinação modificada, em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.....42

1. REVISÃO DE LITERATURA

TOXOPLASMOSE EM CAPRINOS

1.1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose universalmente distribuída causada pelo *Toxoplasma gondii* (NICOLLE; MANCEAUX, 1909). O *T. gondii* é um protozoário intracelular obrigatório, que pode infectar qualquer célula nucleada de todos os vertebrados (HOFF; CARRUTHERS, 2002). É classificado como pertencente ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoazida, Sub-classe Coccidiasina, Ordem Eimeriorina, Família Toxoplasmatidae, Gênero *Toxoplasma* e Espécie *T. gondii* (DUBEY, 1993). Foi descrito em 1908 na Tunísia, por Nicole e Manceaux, que o encontraram no roedor *Ctenodactylus gundi*; e no Brasil, por Splendore, em coelhos de biotério usados em seu laboratório que tiveram morte aparentemente natural (AMATO NETO; MARCHI, 1999).

Após a elucidação do ciclo heteroxeno, na década de 70, o *T. gondii* tem sido considerado a única espécie válida deste gênero. Porém estudos de epidemiologia molecular diferenciaram três linhagens clonais (HOWE; SIBLEY, 1995), e está em discussão se estas diferenças indicariam espécies diferentes (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

A infecção toxoplásmica é uma das mais comuns do mundo e estima-se uma ocorrência mundial de dois bilhões de pessoas infectadas (ESTEBAN-REDONDO et al., 1999). A disseminação no ser humano é determinada pela alta prevalência da infecção em espécies animais domésticos e selvagens, principalmente nos suínos e ovinos (NAVARRO, 1992).

A toxoplasmose é classificada como uma das três principais doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos, devido a sua fácil transmissão e disseminação (THOMPSON, 2001). O consumo de carnes ou subprodutos,

principalmente ingeridos crus ou mal cozidos, onde ocorra presença de cistos teciduais viáveis (FRENKEL, 1971; FRENKEL, 1973) ou ainda ingestão de alimentos ou água contaminada, são consideradas as principais vias de transmissão para o homem (DUBEY; BEATTIE, 1988). Bonametti et al. (1997) relataram um surto de toxoplasmose humana adquirida após ingestão de carne crua de carneiro, no município de Bandeirantes, Estado do Paraná-Brasil.

Somente 10 a 20% das infecções no ser humano adulto são sintomáticas (BONAMETTI et al., 1997). Em algumas regiões 40 a 70% da população humana adulta apresentam sorologia positiva para a toxoplasmose (KAWAZOE, 2000). Segundo Hoff e Carruthers (2002), a forma mais severa da doença ocorre em neonatos e imunocomprometidos. Condições ambientais, hábitos culturais do povo e a própria fauna constituem alguns dos fatores que podem explicar a variabilidade desta infecção em diferentes áreas geográficas de um determinado país (DUBEY, 1977).

Os gatos e felídeos selvagens, hospedeiros definitivos, desempenham um papel de grande importância na epidemiologia da toxoplasmose, pois são eles que eliminam oocistos do parasita nas fezes contaminando o solo e a água (MAINAR et al., 1996).

Os caprinos, entre os animais de produção, são uma das espécies mais suscetíveis ao *T. gondii* (DUBEY; ADAMS, 1996).

1.2 TOXOPLASMOSE EM CAPRINOS

Entre os agentes etiológicos de origem parasitária, o *Toxoplasma gondii* é um dos que está envolvido no abortamento de ovinos e caprinos nos Estados Unidos e Escócia (BUXTON, 1990; DUBEY; KIRKBRIDE, 1984), determinando nestes rebanhos grandes perdas econômicas (DUBEY, 1981).

Apesar dos sinais clínicos da toxoplasmose em caprinos adultos se restringir ao trato reprodutivo (DUBEY, 1987), levando a um quadro de abortamento, nascimento de filhotes prematuros e fracos, pode inclusive causar a morte de cabras jovens e adultas (DUBEY; ADAMS, 1996). Dentre os sintomas da toxoplasmose estão encefalite, nefrite, hepatite, abomasite necrosante, enterite e cistite (MEDHI; KAZACOS; CARLTON, 1983).

A eliminação do agente através do leite de cabras experimentalmente infectadas já foi demonstrada por Chiari e Neves (1984) e por Dubey (1980).

Dubey (1980) infectou experimentalmente cabras gestantes (n=13), das quais, três abortaram, duas pariram fetos mortos, duas foram sacrificadas por se apresentarem prostradas e duas morreram.

Chhabra et al. (1982), infectaram cabras gestantes (n=6), sendo três com taquizoítos (5.10^6) pela via intravenosa e três com oocistos (10^7) via oral e constataram que as cabras que receberam taquizoítos apresentaram um quadro agudo da doença, com febre alta, abortamentos e morte. As infectadas com oocistos apresentaram uma sintomatologia mais branda, duas abortaram e uma pariu dois filhotes mortos. Neste estudo, também foi observada a excreção do agente, através do leite.

Outros estudos experimentais realizados por Dubey et al. (1985) e Dubey (1989), demonstraram que os caprinos são mais suscetíveis ao *T. gondii*, do que

outras espécies, e que o agente é mais patogênico para os animais jovens do que para os animais adultos.

Na Tasmânia, Obendorf, Statham e Munday (1990), demonstraram através de inoculações experimentais, que caprinos previamente expostos ao *T. gondii*, resistem mais a uma segunda exposição. Medhi, Kazacos e Carlton (1983) descreveram um caso fatal de toxoplasmose em uma cabra de dois anos de idade nos Estados Unidos.

No Brasil, um experimento realizado em Minas Gerais por Vitor, Pinto e Chiari, (1987), conseguiu demonstrar a presença do *T. gondii* em exsudatos de cabras inoculadas através de bioensaio em camundongos. Em outro estudo, Vitor et al. (1992) comprovaram a transmissão congênita do *T. gondii* em sete de oito cabras inoculadas entre os dias 52 e 67 de gestação, onde ocorreram cinco abortos e dois partos de filhotes debilitados e três cabras inoculadas entre os dias 100 e 133 pariram crias normais apesar de comprovada a transmissão transplacentária.

Em vários locais do mundo outros pesquisadores estudaram a toxoplasmose caprina em rebanhos experimentalmente ou naturalmente infectados; utilizando-se de várias técnicas de sorodiagnóstico, como a imunofluorescência indireta (IFI), a hemaglutinação indireta (HI), o teste de aglutinação modificada (MAT), o teste de aglutinação em látex (LAT), o ELISA e a técnica de Sabin-Feldman; observando prevalências que variaram entre 3,2 e 92,4% de soropositividade.

Dubey et al. (1985) utilizando a prova de Sabin-Feldman, obtiveram índices de soropositividade de 22,7% para caprinos e 13,2% para ovinos. Uma soroprevalência de 22,1% foi observada por Dubey e Adams (1990) utilizando o MAT, em rebanhos caprinos da região noroeste dos Estados Unidos. No México, analisando 707 soros caprino de nove fazendas, de quatro diferentes estados,

Garcia-Vazquez et al. (1993) obtiveram 3,2% de soropositividade. Opel et al. (1991) na Nova Zelândia, utilizando o LAT, observaram 7% de animais reagentes, 23% destes com um ano de idade e 37% adultos.

Rodriguez-Ponce, Molina e Hernández (1995) determinaram uma soroprevalência de 66,31%, pelo ELISA, em estudo realizado em caprinos provenientes da Ilha Canária, na Espanha. Engeland et al. (1998), estudando 1439 cabras durante o período de um ano (1990-1991) na Noruega, observaram perdas fetais em 11,1% dos animais.

Na Venezuela, Nieto e Meléndez (1998), obtiveram uma soropositividade de 6,3% dentre 438 caprinos analisados pela técnica de HI. Bisson et al. (2000) realizando estudos em Uganda, África, através do ELISA, obtiveram 31% de animais reagentes, dentre os 784 examinados.

No Brasil, em Pernambuco, Silva et al. (2003) verificaram uma prevalência de 40,4% pela IFI. Araújo et al. (1984) detectaram 16,1% de animais reagentes empregando a HI, em estudos realizados em rebanhos caprinos da grande Porto Alegre, RS. Enquanto Chiari et al. (1987) observaram, através da IFI, índices que variaram entre 32 a 92,4%, estudando caprinos da zona rural e urbana de Belo Horizonte, respectivamente. Também realizando estudos em Minas Gerais, Machado e Lima (1987) através da HI, detectaram uma soroprevalência de 36,8% e Figueiredo et al. (2000) obtiveram índices que variaram entre 19% utilizando a HI e 19,5% utilizando a IFI e o ELISA.

Mainardi et al. (2000) estudando rebanhos caprinos de sete regiões distintas do estado de São Paulo, constataram uma prevalência de 14,47% pela IFI, Silva; Cutolo e Langoni (2002) obtiveram 8% e 11% de soropositividade pela IFI e pelo MAT respectivamente, Figliuolo (2003) estudando rebanhos caprinos da região

centro-oeste do mesmo Estado, obteve uma prevalência de 28,68%. Meireles, Galisteo e Andrade (2003) através do ELISA, encontraram anticorpos específicos em 34 (17%) dos 200 soros de caprinos testados e mais recentemente Stachissini (2005) observou 23,40% de positividade pela IFI, em rebanhos caprinos também no Estado de São Paulo.

No Paraná, Sella et al. (1994) através da IFI, observaram 30,71% de animais reagentes estudando rebanhos caprinos leiteiros da região de Londrina.

1.3 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. A. P.; SILAV, N. R. S.; CHAPLIN, E. L.; SANTOS, E. B. Prevalência de anticorpos toxoplasmicos em soros de caprinos da região da grande Porto Alegre/RS. **Arquivo da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v. 12, p. 35-40, 1984.

AMATO NETO, V.; MARCHI, C. R. Toxoplasmose. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos gerais**. São Paulo: ed. Atheneu, 1999. cap.18, p. 159-178.

BISSON, A.; MALEY, S.; RUBAIRE-AKIKI, C. M.; WASTLING, J. M. The seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestics goats in Uganda. **Acta Tropical**, v. 76, n. 1, p. 33-38, 2000.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 21-25, 1997.

BUXTON, D. Ovine toxoplasmosis – a review. **Journal Research Society Medicine**, v.83, p.509-511, 1990.

CHHABRA, M. B.; MAHAJAN, S. K.; GUPTA, S. L.; GAUTAM, ° P. Experimental toxoplasmosis in India: prevalence of serum antibodies in sheep and goats. **Indian Journal of Animal Health**, v. 21, n.1, p. 5-8, 1982.

CHIARI, C. A.; NEVES, D. P. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 3, p. 337-340, 1984.

CHIARI, C. A.; LIMA, J. D.; LIMA, W. S. ANTUNES, C. M. F. Soro- epidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 587-609, 1987.

DUBEY, J. P.; Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis and other cyst-forming coccidian of man and animal. In: KREIER, J. P. **Parasitic Protozoa**. New York; Academic Press. v. 3, p. 101, 1977.

DUBEY, J. P.; Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine livers and public health significance of toxoplasmosis in goats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 177, n. 12, p. 1203-1207, 1980.

DUBEY, J. P.; Toxoplasma in goats: A review. **American Journal Veterinary Research** 178, n. 7, p. 671-674, 1981.

DUBEY, J. P.; Toxoplasma –induced abortion in dairy goats. **Agri-Pratice**, v.8, p. 43-52, 1987.

DUBEY, J. P.; Lesions in goats fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Veterinary Parasitology**, v. 32, n. 2-3, p. 133-144, 1989.

DUBEY, J. P. *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming of human and animals. In: KREIER, J.P. **Parasitic Protozoa**. 2ed. San Diego : Academic Press. 1993. p. 1-157.

DUBEY, J. P.; ADAMS, D. S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dairy goats from 1982 to 1984. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 295-296, 1990.

DUBEY, J. P., BEATTIE, C. P. *Toxoplasmoses of Animal and Man*. **Boca Raton, Flórida**, 220p, 1988.

DUBEY, J. P.; DESMONTS, G.; ANTUNES, F.; NCDONALD, C. Serological diagnosis of toxoplasmosis in experimentally infected pregnant goats and transplacentally infected kids. **American Journal Veterinary Research**, v. 46, n. 5, p. 1137-1140, 1985.

DUBEY, J. P., LINDSAY, D. S., ADAMS, D. S., GAY, J. M., BASZLER, T. V., BLAGBURN, B. L., THULLIEZ, P. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. **American Journal Veterinary Research**, v.57, p.329-336, 1996.

ENGELAND, I. V.; WALDELAND, H.; ANDRESSEN, O.; LOKEN, T.; BJORKMAN, C.; BJERKAS, I. Foetal loss in dairy goats: An epidemiological study in 22 herds. **Small Ruminant Research**, v. 30, p. 37-48, 1998.

ESTEBAN,-REDONDO, I; MALEY, S. W.; THOMSON, K.; NICOLL, S.; WRIGHT, S.; BUXTON,D. INNES, E. A. Detection of *T gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. **Veterinary parasitology**, v. 86, n. 3, p. 155-171, 1999.

FIGLIUOLO, L. P. C.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; AGUIAR, D. M.; KASAI, N.; GENARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats from São Paulo State Brazil, **Small Ruminant Research**, v. 55, p. 29-32, 2004.

FIGUEIREDO, J. F.; SILVA, D. A. O.; CABRAL, D. D.; MINEO, J. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of Uberlândia, Brazil, **Revista Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 97-99, 2000.

FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis: mechanismis of infection, laboratory diagnosis and management. **Cur. Trop. Path.**, v. 54, p. 28-75, 1971

FRENKEL, J. K. Toxoplasma in and around us. **Bioscience**, v. 23, p. 343-352, 1973.

GARCIA-VÁZQUEZ,Z.; ROSARI-CRUZ, R.; DIAS GARCIA, G.; HERNANDEZ-BAUMGARTEN, O. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, swine and goats in four Mexican satates. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 17, n. 1, p. 127-132, 1993.

HOFF, E. F.; CARRUTHERS, V. B. Is *Toxoplasma* a first step in invasion? **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 6, p. 251-255, 2002.

HOWE, D. K.; SIBLEY, L. D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 172, p. 1561-1566, 1995.

KAWAZOE, V. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2000. cap. 17, p. 147-156.

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

MAINAR, R. C.; DE LA CRUZ, C.; ASENSIO, A.; DOMÍNGUEZ, L.; VÁSQUEZ-BOLAND, J. A. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* small ruminants of the Madrid region, Spain, and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. **Veterinary Research Communications**, v. 20, n. 2, p. 153-159, 1996.

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

MEHDI, N. A. Q.; KAZACOS, K. R.; CARLTON, W. W. Fatal disseminated toxoplasmosis in a goat from. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 183, n. 1, p. 115-117, 1983.

MEIRELES, L. R.; GALISTEO JR., A. J.; ANDRADE JR.; H. F. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo state, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 4, p. 264-271, 2003.

NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N.; FREIRE, R. L. *Toxoplasma gondii*. Isolamento a partir de carne e cérebro de suínos comercializados na região de Londrina-PR. **SEMINA: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 13, p. 15-18, 1992.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur un protozoaire nouveau du *gondii*. **Paris**, v. 147, p. 763-766, 1909.

NIETO, S. O.; MELÉNDEZ, R. D. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in goats from arid zones of Venezuela. **The Journal of Parasitology**, v. 84, n. 1, p. 190-191, 1998.

OBENDORF, D. L.; STATHAM, P.; MUNDAY, B. L. Resistance to *Toxoplasma* abortion in female goats previously exposed to *Toxoplasma* infection. **Australian Veterinary Journal**, v. 67, n. 6, p. 233-234, 1990.

OPEL, U.; CHARLESTON, W. A. G.; POMROY, W. E.; ROMMEL, M. A survey of the prevalence of *Toxoplasma* infection in goats in New Zealand and a comparison of the latex agglutination and indirect fluorescence tests. **Veterinary Parasitology**, v. 40, n. 3-4, p. 181-186, 1991.

RODRÍGUEZ-PONCE, E.; MOLINA, J. M. ; HERNANDEZ, S. Seroprevalence of goat toxoplasmosis on Grand canary Island (Spain). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 24, n. 4, p. 229-234, 1995.

SELLA, M. Z.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO O.; FREIRE, R. L.; SHIDA, P. N. Epidemiologia da toxoplasmose caprina, levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na micro região de Londrina, Paraná, Brasil. **Revista Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, v. 3, n. 1, p. 13-16, 1994.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti – *Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2002.

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

THOMPSON, A. R. C. The future impact of societal and cultural factors on parasitic disease-some emerging issues. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 949-959, 2001.

VITOR, R. W. A.; LIMA, J. D.; TAFURI, J. D.; FERNANDES, M. A.; BAHIA, M. T.; CHIARI, C. A. Toxoplasmose experimental em cabras gestantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, v. 44, n. 6, p. 501-512, 1992.

VITOR, R. W. A.; PINTO, J. B.; CHIARI, C. A. Eliminação de *Toxoplasma gondii* Através da urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, v. 42, n. 2, p. 147-154, 1991.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no município de Pitanga, Paraná.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Associar a ocorrência de anticorpos anti – *Toxoplasma gondii* à presença de problemas reprodutivos nos rebanhos estudados;

Avaliar a eficácia do teste de aglutinação modificada (MAT) para o diagnóstico da toxoplasmose caprina.

3. ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO

3.1 INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS NO MUNICÍPIO DE PITANGA, PARANÁ, BRASIL

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos leiteiros naturalmente infectados, de propriedades no município de Pitanga, Paraná. O estudo analisou 282 amostras de soro que foram submetidas à imunofluorescência indireta (IFI). A infecção por *T. gondii* foi verificada em 44,68% dos animais (126/282). Houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,0086$) em relação ao sexo dos animais, sendo que as fêmeas tiveram maior soropositividade (88,10%). Conclui-se que a alta prevalência da toxoplasmose, aliada aos altos títulos obtidos e sinais clínicos presente nos rebanhos, sugerem a toxoplasmose como uma importante causa de problemas reprodutivos em rebanhos caprinos.

Palavras-chaves: *Toxoplasma gondii*, caprinos, problemas reprodutivos.

***Toxoplasma gondii* INFECTION IN GOATS FROM PITANGA'S CITY, PARANÁ
STATE, BRAZIL**

ABSTRACT

This work had as aim to verify the occurrence of antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in sera of milking goat naturally infected, at three properties of the city of Pitanga, Paraná. A number of 282 blood samples were collected and analyzed through the indirect immunofluorescence (IFI). The prevalence was of 44,68%, with 126 serumpositives animals. Relation to the sex, the females had the prevalence of 88,10%, which was statistically significant ($p=0,0086$). The high prevalence of toxoplasmosis allied to the high gotten titles is concluded that is in harmony with the clinical signals in the flocks, proving that the illness is an important cause of reproductive problems in goat flocks.

Key-words: *Toxoplasma gondii*, goats, reproductive problems.

INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS NO MUNICÍPIO DE PITANGA, PARANÁ, BRASIL

3.1.1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial. Estima-se que aproximadamente dois bilhões de pessoas possam estar infectadas pelo *Toxoplasma gondii*, por isso é considerada uma das infecções parasitárias mais comum do mundo (ESTEBAN-REDONDO, 1999). É causada por um protozoário, o *T. gondii*, que tem a capacidade de infectar a maioria dos animais endotérmicos, sendo causa freqüente de abortos em humanos e outras espécies, inclusive os caprinos (DUBEY, 1981).

Os caprinos são uma importante fonte de infecção para a saúde pública já que a transmissão pode se dar por duas importantes formas: através do leite “in natura” contendo taquizoítas (VITOR et al. 1991) e através da carne infectada pelos bradizoítas (DUBEY, 1980; FIGUEIREDO et al, 2000). Um estudo epidemiológico realizado na região de Belo Horizonte – MG mostrou que houve associação entre a soropositividade para o *T. gondii* em humanos e a ingestão de leite de cabra (CHIARI et al., 1987).

Os caprinos, dentre os animais destinados à produção, são uma das espécies mais suscetíveis ao *T. gondii*. Feldman e Miller (1956) estudaram rebanhos caprinos no Estado de Nova York e evidenciaram, pela primeira vez, a toxoplasmose nesta espécie. Munday e Mason (1979), na Austrália, foram os primeiros a descreverem a toxoplasmose como importante causa de problemas reprodutivos em caprinos, determinando nesta espécie quadros de abortamentos, natimortalidade, nascimento de filhotes prematuros e fracos, e até mesmo a morte de cabras jovens e adultas (DUBEY; ADAMS, 1990), levando a grandes perdas econômicas (DUBEY, 1981).

A transmissão via transplacentária foi comprovada através de infecção experimental por Dubey (1988), Obendorf, Statan e Munday (1990) e Vitor et al. (1992).

No Brasil, as soroprevalências da toxoplasmose caprina variaram de 16,55% a 65% (FIGLIUOLO et al., 2003; MACHADO e LIMA,1987; MAINARDI et al., 2000; SILVA et al., 2003; e STACHISSINI, 2005). No Paraná, Sella et al. (1994), verificaram uma prevalência de 30,71% em caprinos leiteiros da região de Londrina, no norte do Estado do Paraná.

Devido ao fato da caprinocultura ser uma pecuária em evolução no Brasil e em particular na região central e sul do Estado do Paraná, aliado a escassez de dados sobre a prevalência da toxoplasmose em caprinos e a ocorrência de problemas reprodutivos nos rebanhos, o presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de caprinos leiteiros naturalmente infectados, de propriedades do município de Pitanga na região central do Estado do Paraná.

3.1.2 MATERIAL E MÉTODOS

População e amostragem:

Segundo dados do IBGE (2000) o município de Pitanga possui 1.664 km² de extensão territorial e está localizado entre latitude 23° 45' 21" sul e longitude 51° 45' 41" W – GR, possui clima subtropical úmido mesotérmico, com temperatura média de 21°C, verões frescos, invernos com ocorrências de geadas severas e freqüentes, não apresentando estação seca. Dados do IBGE (2002) estimam o rebanho caprino de Pitanga em 1.530 cabeças.

Foram coletadas 282 amostras de sangue de caprinos de propriedades do município de Pitanga – PR. Para cada propriedade foi preenchida uma ficha que contemplava dados da propriedade (localização, atividade principal, n.º de pessoas envolvidas na atividade, saneamento básica, presença de roedores, presença de animais domésticos e hábitos alimentares) e aspectos epidemiológicos do rebanho (sexo, idade, tipo de alimentação, manejo sanitário, ocorrência de problemas reprodutivos, frequência e tipo do problema).

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado através do programa Epi Info 6,04 (DEAN et al., 1994), sendo a amostragem realizada de forma aleatória, estratificada por faixa etária.

Coleta do material:

As amostras foram coletadas por venopunção jugular, com o animal em estação, utilizando-se agulhas descartáveis 40x12, e tubos de ensaio devidamente identificados. Após a retração do coágulo, os soros foram acondicionados em tubos tipo “ependorf”, identificados e mantidos a temperatura de -18°C até a realização dos testes sorológicos.

Exames sorológicos:

As amostras foram analisadas pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI), segundo método descrito por Camargo (1973), com a utilização do conjugado anti-IgG caprino (Sigma Immuno Chemicals, Catalog 1990, Product F9012), previamente padronizado na diluição 1:2.100. As titulações iniciaram em 16, sendo consideradas positivas as reações com título ≥ 64 (RIEMANN et al., 1977).

Análise estatística:

Foi utilizado o teste do qui-quadrado (χ^2) para avaliar as variáveis estudadas, considerando um nível de significância de 5%.

3.1.3 RESULTADOS

Das 282 amostras de soro coletadas e analisadas pela IFI, 126 foram positivas com título ≥ 64 (44,68%) e 156 (55,32%) foram negativas.

Entre os soropositivos o título de maior frequência foi de 64 (42,85%), seguido dos títulos: 4096 (30,95%), 256 (14,28%) e 1024 (11,90%), Tabela 1.

A distribuição dos soropositivos segundo a faixa etária pode ser observada na Tabela 2. Dos 126 animais soropositivos, 20 (15,87%) estavam entre 0 e 6 meses; 20 (15,87%) entre 7 e 12 meses; 30 (23,81%) entre 13 e 24 meses e 56 (44,45%) mais de 24 meses ($p = 0,1223$).

Em relação ao sexo houve diferença estatística significativa ($p = 0,0086$), dos 126 animais positivos, 111 (88,10%) eram fêmeas e 15 (11,90%) eram machos (tabela 3).

Tabela 1. Distribuição das frequências de títulos soropositivos obtidos pela imunofluorescência indireta em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.

	Titulação			
	64	256	1024	4096
Nº de amostras	54	18	15	39
%	42,85	14,28	11,90	30,95

Tabela 2. Distribuição dos soropositivos e soronegativos pela imunofluorescência indireta, segundo a faixa etária, em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.

Faixa etária (meses)	Soropositivos (%)	Soronegativos (%)
0 6	20 (15,87)	24 (15,4)
6 12	20 (15,87)	41 (26,2)
12 24	30 (23,81)	39 (25)
> 24	56 (44,45)	52 (33,4)
Total	126 (100)	156 (100)

$p = 0,1223$

Tabela 3. Distribuição dos soropositivos e soronegativos pela imunofluorescência indireta, de acordo com o sexo, em caprinos no município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.

Sexo	Soropositivos (%)	Soronegativos (%)
macho	15 (11,90)	39 (25,0)
fêmea	111 (88,10)	117 (75,0)
Total	126 (100)	156 (100)

$p < 0,0086$

Todas as propriedades estudadas apresentaram animais positivos, possuíam manejo semi-extensivo, a alimentação era basicamente a pasto, ocorrendo suplementação com feno apenas no inverno. Em todas as propriedades foi verificada a ocorrência de problemas reprodutivos no rebanho como abortos, nascimento de filhotes fracos, com má formação e/ou problemas neurológicos, além de fêmeas em período de anestro e repetição de cio.

3.1.4 DISCUSSÃO

Considerando objetivo deste trabalho, que foi verificar a ocorrência de anticorpos anti - *T. gondii* em rebanhos caprinos no município de Pitanga – PR, a prevalência obtida de 44,68% pode ser considerada alta quando comparada à prevalência de 30,71% observada por Sella et al. (1994), na região de Londrina, norte do Estado do Paraná.

As maiores freqüências observadas encontram-se nas diluições de 1:64 (42,85%), compatível com a fase crônica da infecção, e 45,23% acima de 1:1024 sugerindo a fase aguda da doença.

Os problemas reprodutivos observados nas propriedades são um forte indicativo da toxoplasmose na fase aguda, os mesmos sinais foram observados em rebanhos de ovinos da Escócia, UK, por Buxton (1990) e dos EUA por Dubey e Kirkbride (1984).

Na distribuição dos soropositivos segundo as faixas etárias não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. No entanto, houve diferença de freqüência da infecção entre o sexo feminino e masculino. Tal diferença também foi observada por Silva et al. (2003) estudando caprinos leiteiros e ovinos. Entre os caprinos a porcentagem de fêmeas (43,88%) sororeagentes foi significativamente maior que a dos machos (21,21%), enquanto que entre os ovinos o quadro foi inverso, os machos apresentaram maior porcentagem que as fêmeas. Silva et al. (2003) apontaram o manejo dos animais como causa desta diferença, já que na exploração leiteira o confinamento ou aglomeração das fêmeas é mais comum.

A presença de felinos em todas as propriedades e com livre acesso às instalações, foi um achado importante que reforça os resultados obtidos.

3.1.5 CONCLUSÃO

A análise dos resultados conclui-se que a alta prevalência de sororeagentes aliada aos altos títulos sorológicos obtidos e os sinais clínicos observados, sugerem a toxoplasmose como causa dos problemas reprodutivos nos rebanhos caprinos estudados.

3.1.6 REFERÊNCIAS

- CAMARGO, M. E.; Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 10, n. 4, p. 143-171, 1973.
- CHIARI, C. A.; LIMA, J. D.; LIMA, W. S. ANTUNES, C. M. F. Soro- epidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 587-609, 1987.
- BUXTON, D. Ovine toxoplasmosis – a review. **Journal Research Society Medicine**, v.83, p.509-511, 1990.
- DEAN, G. A.; DEAN, A. J.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K. M.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. – Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, **Center for Diseases Control and Prevention**, 1994.
- DUBEY, J. P.; Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine livers and public health significance of toxoplasmosis in goats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 177, n. 12, p. 1203-1207, 1980.
- DUBEY, J. P.; Toxoplasma –induced abortion in dairy goats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 178, n. 7, p. 671-674, 1981.
- DUBEY, J. P.; Lesions in transplacentally induced toxoplasmosis in goats. **American Journal Veterinary Research**, v. 49, n. 6, p. 905-909, 1988.
- DUBEY, J. P.; ADAMS, D. S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dairy goats from 1982 to 1984. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 295-296, 1990.
- DUBEY, J. P.; KIRKBRIDE, C. A. Epizootics of ovine abortion due to *Toxoplasma gondii* in north-central United States. **Journal Parasitology**, v. 75, p. 673-676, 1989.
- ESTEBAN-REDONDO, I.; MALEY, S.W.; THOMSON, K.; NICOLL, S.; WRIGHT, S.; BUXTON, D.; INNES, E. A. Detection of *T. gondii* in tissues of shepp and cattle following oral infection. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 155-171, 1999.
- FELDMAN, H. & MILLER, I. **Serological study of toxoplasmosis prevalence**. **American Journal Hygiene**, v. 64, p. 320-335
- FIGLIUOLO, L. P. C.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; AGUIAR, D. M.; KASAI, N.; GENARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats from São Paulo State Brazil, **Small Ruminant Research**, v. 55, p. 29-32, 2004.

FIGUEIREDO, J. F.; SILVA, D. A. O.; CABRAL, D. D.; MINEO, J. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of Uberlândia, Brazil, **Revista Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 97-99, 2000.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidade de Pitanga.Cidade @, **Produção de Pecuária Municipal, 2002**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>>. Acesso em: 08 set. 2005.

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

MAINARDI, R. S.; MODOLO, J. R.; STACCHISSINI, A. V. M.; PADOVANI, C. R.; LANGONI, H. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 6, p. 759-761, 2003.

MUNDAY, B. L.; MASON, R. W. Toxoplasmosis as a cause in perinatal death in goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 55, p. 485-487, 1979.

OBENDORF, D. L.; STATHAM, P.; MUNDAY, B. L. Resistance to *Toxoplasma* abortion in female goats previously exposed to *Toxoplasma* infection. **Australian Veterinary Journal**, v. 67, n. 6, p. 233-234, 1990.

RIEMANN, H. P.; WILLADSEN, C. M.; BERRY, I. J.; BEHYMER, D. E.; GARCIA, Z. V.;FRANTIL, C. E.; RUPPANNER, R. Survey for *Toxoplasma* antibodies among sheep in Western United States. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 171, p. 1200-1264, 1977.

SELLA, M. Z.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO O.; FREIRE, R. L.; SHIDA, P. N. Epidemiologia da toxoplasmose caprina, levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na micro região de Londrina, Paraná, Brasil. **Revista Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, v. 3, n. 1, p. 13-16, 1994.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S. Toxoplasmose em ovinos e caprinos em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 115-119, 2003.

STACCHISSINI, A. V. M. ***Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em caprinos do estado de São Paulo: perfis soro-epidemiológicos e co-infecção com o vírus da artrite-encefalite caprina**. 2005. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Vigilância Sanitária) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

VITOR, R. W. A.; LIMA, J. D.; TAFURI, J. D.; FERNANDES, M. A.; BAHIA, M. T.; CHIARI, C. A. Toxoplasmose experimental em cabras gestantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 6, p. 501-512, 1992.

VITOR, R. W. A.; PINTO, J. B.; CHIARI, C. A. Eliminação de *Toxoplasma gondii* através de urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 42, n. 2, p. 147-154, 1991.

3.2 AVALIAÇÃO DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA (MAT) PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI - *Toxoplasma gondii* EM SORO DE CAPRINOS NATURALMENTE INFECTADOS

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o teste de aglutinação modificada (MAT) utilizando a imunofluorescência indireta (IFI) como teste padrão, determinar a especificidade e a sensibilidade do MAT e avaliar a concordância dos resultados entre os testes (IFI e MAT). Foram coletadas 282 amostras de soro caprino, de propriedades do município de Pitanga, Paraná. As técnicas sorológicas utilizadas foram a IFI e o MAT. A prevalência encontrada para a IFI foi de 44,68% e 23,05% para o MAT. Na comparação dos resultados foi observada uma concordância moderada ($Kappa = 0,56$). Os resultados de sensibilidade (55%) e especificidade (96,6%) para o MAT obtidos neste estudo permitem recomendá-lo como teste confirmatório.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, imunofluorescência indireta, teste de aglutinação modificada, caprinos.

**MODIFIED AGGLUTINATION TEST (MAT) FOR DETECTION OF ANTIBODIES
AGAINST *Toxoplasma gondii* IN SERUM OF NATURALLY INFECTED GOATS**

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the specificity and the sensitivity of the MAT and evaluating the agreement of the results between the tests (IFI and MAT), searching to identify the most adequate to diagnosis toxoplasmosis in goat flocks. A number of 282 blood samples were collected, at three properties of the city of Pitanga, Paraná. The serological techniques used had been the IFI and the MAT. The prevalence found for the IFI was of 44,68% and 23,05% for the MAT. In the comparison of the results we observed a moderate agreement ($Kappa = 0,56$) and the results of S=55,3% and E=96,6% for the MAT allow to recommend it as confirmatory test.

Key-words: *Toxoplasma gondii*, indirect immunofluorescence, modified agglutination test, goats.

AVALIAÇÃO DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADA (MAT) PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI - *Toxoplasma gondii* EM SORO DE CAPRINOS NATURALMENTE INFECTADOS

3.2.1 INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* tem a capacidade de infectar a maioria dos animais endotérmicos, sendo causa freqüente de abortos em humanos e outras espécies animais, inclusive os caprinos (DUBEY, 1981). É uma zoonose de distribuição cosmopolita, sendo considerada uma das infecções parasitárias mais comum do mundo, (ESTEBAN-REDONDO, 1999).

Os caprinos, dentre os animais destinados à produção, são uma das espécies mais suscetíveis ao *T. gondii*, determinando nestes rebanhos, grandes perdas econômicas (DUBEY, 1981).

Os caprinos infectados são importantes reservatórios, já que a transmissão pode se dar através da carne de animais infectados e através do leite “*in natura*”, quando em fase de parasitemia (VITOR, PINTO e CHIARI, 1991), representando grande risco à saúde humana. Sendo o leite de cabra bastante utilizado na alimentação de crianças alérgicas ao leite de vaca (FIGUEIREDO et al., 2000), torna-se necessário conhecer a prevalência desta doença nos rebanhos caprinos, através de um teste sorológico rápido, de baixo custo, alta sensibilidade e especificidade.

Diferentes testes sorológicos são indicados para determinar a prevalência do agente nas várias espécies de animais acometidos pelo *T. gondii*, dentre eles a imunofluorescência indireta (IFI), considerado um teste padrão em vários laboratórios. O teste da aglutinação modificada (MAT) vem sendo amplamente

utilizado em sorodiagnósticos pela não utilização de conjugado espécie específico, podendo ser utilizado tanto em animais domésticos quanto silvestres (DUBEY et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o teste de aglutinação modificada (MAT) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em caprinos naturalmente infectados, utilizando a IFI com teste padrão.

3.2.2 MATERIAL E MÉTODOS

População e amostragem

Foram coletadas 282 amostras de soro caprino, de propriedades do município de Pitanga-PR.

Provas sorológicas

As técnicas sorológicas utilizadas foram a imunofluorescência indireta (IFI), realizada de acordo com a descrição de Camargo (1973), utilizando-se como ponto de corte a diluição 1:64 (RIEMANN et al., 1977); e o teste de aglutinação modificada (MAT), segundo Desmonts e Remington (1980) e modificada por Dubey e Desmonts (1987), também utilizando como ponto de corte a diluição de 1:64.

Análise estatística

Os resultados foram tabulados e realizados os cálculos de sensibilidade, especificidade (GART; BUCK, 1966) e concordância de *Kappa* (LANDIS; KOCH, 1977), utilizando-se o programa Epi Info 6,04 (DEAN et al., 1994).

3.2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 282 amostras de soro caprino analisadas para pesquisa de anticorpos anti - *T. gondii*, 126 (44,68%) foram soropositivas pela IFI e 65 (23,05%) pelo MAT. Dubey et al. (1990) analisando soro de rebanhos caprinos do noroeste americano, obtiveram uma soropositividade de 22,1% pelo MAT.

Quando os resultados obtidos nos testes da IFI e do MAT foram comparados (Tabela 1), apenas 57 (20,21%) das 282 amostras foram soropositivas para ambos os testes e 173 (61,34%) foram soronegativas. O valor de *Kappa* estabelecido em 0,56 demonstra que a concordância entre as técnicas foi “moderada”, segundo critérios propostos por Landis e Koch (1977).

Apesar da baixa sensibilidade obtida no MAT (S=55,3%), obteve-se uma alta especificidade (E=96,6%), o que nos confere uma maior confiabilidade nos resultados positivos, podendo este ser usado como um teste confirmatório.

Tabela 1. Resultados soropositivos e soronegativos obtidos pela imunofluorescência indireta e pelo teste de aglutinação modificada, em caprinos do município de Pitanga, Paraná, Brasil, 2004.

		RIFI		
		Positivo	Negativo	
MAT	Positivo	57	6	63
	Negativo	46	173	219
TOTAL		103	179	282

Sensibilidade(S): 55,3% (IC 95%: 45,2 – 65,0)
 Especificidade (E): 96,6% (IC 95%: 92,5 – 98,6)
 Valor Preditivo Positivo (VPP): 90,5% (IC 95%: 79,8 – 96,1)
 Valor Preditivo Negativo (VPN): 79,0% (IC 95%: 72,9 – 84,1)
Kappa: 0,56

Apenas um estudo comparativo entre as técnicas IFI e MAT foi realizado no Brasil, no Estado de São Paulo por Silva et al. (2002), utilizando grupos de 100 animais de quatro diferentes espécies, ovinos ($Kappa=0,84$), caninos ($Kappa=0,70$), felinos ($Kappa=0,76$) e caprinos ($Kappa=0,59$), as concordâncias entre os resultados obtidos foram de substancial a ótimo para todas as espécies, exceto para os caprinos, onde a concordância foi moderada como a encontrada neste estudo ($Kappa=0,56$). Minho et al. (2004) compararam as duas técnicas em suínos experimentalmente infectados e observaram uma excelente concordância nos resultados, com valor de $Kappa=0,93$.

3.2.4 CONCLUSÃO

Os resultados de sensibilidade e especificidade obtidos para o MAT no presente estudo, permitem recomendá-lo como teste confirmatório.

3.2.5 REFERÊNCIAS

- CAMARGO, M. E.; Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 10, n. 4, p. 143-171, 1973.
- DEAN, G. A.; DEAN, A. J.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULIVAN, K. M.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. – Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, **Center for Diseases Control and Prevention**, 1994.
- DESMONTS, G.; REMINGTON, J. S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **Journal Clinical Microbiologyc**, v. 11, p. 562-568, 1980.
- DUBEY, J. P.; *Toxoplasma* – induced abortion in dairy goats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 178, n. 7, p. 671-674, 1981.
- DUBEY, J. P.; DESMONTS, G. Serological responses of equids fed with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, p. 1239-1243, 1987.
- DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P.; WEIGEL, R. M.; ANDREWS, C. D.; LIND, P.; POWELL, E. C. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 8, p. 1030 – 1036, 1995.
- ESTEBAN-REDONDO, I.; MALEY, S.W.; THOMSON, K.; NICOLL, S.; WRIGHT, S.; BUXTON, D.; INNES, E. A. Dectection of *T. gondii* in tissues of shepp and cattle following oral infection. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 155-171, 1999.
- FIGUEIREDO, J. F.; SILVA, D. A. O.; CABRAL, D. D.; MINEO, J. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of Uberlândia, Brazil, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 97-99, 2000.
- GART, J. J.; BUCK, A. A. Comparison of screening test a reference test in epidemiologic studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 83, n. 1, p. 593-602, 1966.
- LANDIS, J. R; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement the categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 59, 1977.
- MINHO, A. P.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; GENNARI, S. M.; MARANA, E. M.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Evaluation of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in experimental infected pigs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 24, p. 199-202, 2004.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti – *Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2002.

VITOR, R. W. A.; PINTO, J. B.; CHIARI, C. A. Eliminação de *Toxoplasma gondii* através de urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 42, n. 2, p. 147-154, 1991.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no sorodiagnóstico da toxoplasmose caprina nos rebanhos estudados demonstram uma alta prevalência da doença, sugerindo a toxoplasmose como causa dos problemas reprodutivos observados nestes rebanhos. Em relação à viabilidade do teste de aglutinação modificada (MAT), os resultados obtidos neste estudo permitem recomendá-lo como teste confirmatório.

5. APÊNDICE

FICHA EPIDEMIOLÓGICA - TOXOPLASMOSE

Propriedade nº _____ Data: ___/___/___

Entrevistado Nome/Função: _____

Proprietário: _____

Fone para contato: _____

1. Dados gerais sobre a propriedade:

Endereço/Município:

Localização :

Tamanho(hectare/alqueire):

1.2. Atividade principal:

pecuária agricultura mista

2. Dados epidemiológicos:

2.1. Número de pessoas que moram na propriedade:

Adultos: (> 18 anos) Adolesc: (> 12 a 18 anos)

Crianças: (0 a 12 anos)

2.2. Presença de roedores:

sim não silvestre

2.3. Observados em:

depósito de ração curral residência outros

não sabe

2.4. Presença de gatos: sim não não sabe

Nº de animais _____

2.5. Os gatos têm acesso a:

depósito de ração feno silagem curral

pastagem sala de ordenha outros

2.6. Abastecimento de água (homem):

rede pública poço convencional mina Poço artesiano

não sabe outros

2.7. Abastecimento de água (animais):

rede pública poço convencional mina represa

açude pluvial córrego outros

2.8. A água consumida é armazenada em caixa d'água: sim não

2.9. A água tem cor: sim não

2.10. “ “ “ cheiro: sim não

2.11. “ “ “ sabor: sim não

2.12. A fonte de abastecimento de água está próxima à:

2.12.1 Curral sim não

2.12.2 Esgoto sim não

2.12.3 Privada sim não

2.12.4 Canil sim não

2.13. Ingestão de carnes e derivados produzidos na propriedade: sim não

2.13.1 Qual a frequência?: diariamente semanalmente

mensalmente semestralmente anualmente

2.14. Após temperar, você experimenta a carne antes de cozinhar: sim não

2.15. Tipo de carne consumida: crua mal passada cozida

2.16. Qual os derivados consumidos?: lingüiça frescal

lingüiça defumada quibe cru outro; qual?

2.17. Ocorre abate de animais na propriedade, para consumo próprio: sim não

2.18. Quais as espécies: bovina suína ovina aves (frangos)

caprina outra

2.19. O leite utilizado para a produção de queijo é pasteurizado ou fervido ?

sim não não sabe

2.20.O queijo produzido na propriedade é consumido pelos moradores: sim não não sabe**2.21.Os moradores fizeram algum exame de sangue em 1999 a 2003:** sim não não sabe**2.22.Toxoplasmose** sim não não sabe**Qual o teste? Título****2.23.Brucelose** sim não não sabe**Qual o teste? Título****2.24.Leptospirose** sim não não sabe**Qual o teste? Título****2.25.Outros:****Qual o teste? Título****3. Dados sobre a criação caprina:****3.1.Tipo de exploração:** Pecuária intensiva Pecuária semi-intensiva Pecuária extensiva**3.3.Raça predominante:** _____ _____ _____ _____**3.4.Alimentação volumosa:** pastagem forrageira feno**3.5.Alimentação controlada:** ração comercial ração produzida na propriedade**3.6.Suplementação mineral:** sal comum sal comum + mineral nenhuma**3.7.Número de animais:** 0 a 6 meses 7 a 12 meses 13 a 24 meses + de 24 meses**3.8.Problemas reprodutivos:** abortamento repetição de cio natimortos recém nato debilitado ausência de cio não sabe nenhum problema outros. Quais:**3.9.Freqüência dos problemas reprodutivos (n.º de crias) :** primeira segunda após 5ª todas sem problema reprodutivo**3.10.Fase da gestação acometida:** terço inicial terço médio terço final não sabe**3.11.O problema foi diagnosticado:** sim não Qual:**3.12.Problemas neurológicos nos recém natos:** membros flexionados membros hiperextendidos ataxia exoftalmia assimetria ocular nenhum outro

6. ANEXO

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Objetivo e política editorial

O periódico Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. é editado pela Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia/FEP MVZ Editora, e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal e áreas afins relacionadas com a produção animal.

Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). A lista de especialistas que colaboraram em cada volume é publicada no último fascículo do ano. Os trabalhos cujos textos necessitem de revisões ou correções que não puderem ser feitas pelos editores serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista.

Os trabalhos para publicação deverão ser encaminhados ao **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, no endereço abaixo.

Tipos de trabalhos aceitos para publicação

Artigo científico. É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Elementos do corpo do texto: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Conclusões.

Relato de caso. Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Elementos do corpo do texto: Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes).

Comunicação. É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. Levantamentos de dados (ocorrência, diagnósticos etc.) também se enquadram aqui. Deve ser compacto, com no máximo quatro páginas impressas, sem distinção dos elementos do corpo do texto especificados para artigo científico, embora seguindo aquela ordem. Quando a comunicação for redigida em português deve conter um *abstract* e quando redigida em inglês deve conter um resumo.

Nota prévia. É o relato sucinto de um achado excepcional, de um invento ou de uma descoberta que requer publicação rápida para garantir a originalidade ou autoria.

Taxa de publicação e separatas

A taxa de publicação de artigos aceitos será de R\$20,00 por página impressa em preto, cobrada por ocasião da prova final do trabalho do primeiro autor.

Não será cobrada taxa de publicação se todos os autores do trabalho forem assinantes do *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores.

Normas gerais

Os trabalhos e ilustrações deverão ser apresentados em três cópias impressas em uma só face, espaço entre linhas 1,5, fonte Times New Roman tamanho 12 e 3cm de margens, com páginas numeradas, não excedendo a 15. A versão final dos trabalhos aceitos para publicação deverá ser apresentada em disquete identificado (3½ polegadas), em editor de texto compatível com o Word for Windows, sem formatação do texto, juntamente com uma cópia impressa.

Os trabalhos devem ser redigidos em português ou inglês. Para ortografia em inglês recomenda-se o Webster's Third New International Dictionary. Para ortografia em português adota-se o Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa, da Academia Brasileira de Letras. Os trabalhos submetidos em inglês deverão conter resumo em português e vice-versa.

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com a ABNT-NB 896. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na seqüência do texto. Quando os nomes dos autores forem parte integrante do texto menciona-se a data da publicação citada entre parênteses, logo após o nome do autor, conforme exemplos:

- a) autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971) e (Anuário..., 1987-88) ou Anuário... (1987-88)
- b) dois autores: (Lopes & Moreno, 1974) ou Lopes & Moreno (1974)
- c) mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- d) mais de um trabalho citado: Dunne (1967), Silva (1971) e Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente.

Citação de citação (ABNT-NB 896). Citar o autor e data do documento não consultado, seguido da expressão *apud* e autor e data do documento efetivamente consultado. Na lista de referências inclui-se apenas o documento consultado. Trabalhos não publicados (ABNT-NB 896). Não fazem parte da lista de referências bibliográficas, sendo apenas mencionados os dados bibliográficos disponíveis em nota de rodapé.

Comunicação oral (ABNT-NBR 896). Indicada pela expressão "informação verbal", entre parênteses. Os dados para identificação do autor da informação são citados em nota de rodapé.

Internet. Citar o autor e ano. (Nota de Rodapé) Autor. Título. Data Completa da Informação (dd/mm/aaaa). Endereço eletrônico.

Características dos elementos de um trabalho

Título. Em português e em inglês e vice-versa. Evitar termos não significativos como estudo, exame, análise etc. Deve ser o resumo do resumo e não ultrapassar 100 dígitos.

Autores. Os nomes dos autores virão abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. No trabalho deve estar indicado o autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e e-mail. O excedente a cinco autores aparece em nota de rodapé como colaboradores.

Resumo e Abstract devem conter no máximo 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase é uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords. No máximo cinco.

Introdução. Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência, relevância e os objetivos do trabalho.

Material e métodos. Técnicas e procedimentos de rotina devem ser apenas referenciados. Não se aceitam subtítulos.

Resultados e Discussão. Os resultados poderão ser apresentados como um elemento do texto ou juntamente com a discussão, em texto corrido ou mediante ilustrações. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. Comparações, quando pertinentes, devem ser feitas de forma que o leitor chegue as suas próprias conclusões.

Ilustrações são tabelas e figuras. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) de onde foi extraída. A referência bibliográfica completa relativa à fonte da ilustração deve figurar na lista bibliográfica final. As despesas de impressão de ilustrações coloridas correrão por conta dos autores.

Tabela. O termo refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Serão construídas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figura. O termo refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. Os desenhos, gráficos etc. devem ser feitos com tinta preta, bem nítidos. As fotografias, no tamanho de 10 x 15cm, devem ser bem nítidas e de bom contraste, ambos indicando no verso a orientação para impressão, nome do autor e a qual figura se refere. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. Chama-se a atenção para as proporções entre letras, números e dimensões totais da figura: caso haja necessidade de redução, esses elementos também serão reduzidos e podem ficar ilegíveis. Assim, é bom que o tamanho dos desenhos apresentados pelos autores se aproxime do tamanho final impresso. Além de impressas, quando pertinente, devem ser enviadas em arquivo separado, identificado, em Corel Draw ou compatível, extensão .bmp.

Conclusões. As conclusões podem estar inseridas na discussão. Neste caso este item não é necessário. As conclusões não devem ser repetição dos resultados. Lembrar que nem sempre são necessárias.

Referências bibliográficas.

As referências deverão estar em ordem alfabética. São adotadas as normas ABNT-NBR-6023 – fevereiro de 2000 (Associação Brasileira de Normas Técnicas) simplificadas, conforme exemplos:

Periódicos

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A., REEVES, W.C., HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A., TAGLE, R., WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Publicação avulsa

DUNNE, H.W. (ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M., MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14, 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo, 1974. p.97. Resumo.

MORRIL, C.C. Infecciones por clostrídios. In: DUNNE, H.W. (ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. p.19-20.

SILVA, N.Q. *Peritonioscopia na égua*. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1971. 38p. (Tese, Mestrado).

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)