

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS
IgG ANTI-*Neospora caninum* E ANTI-*Toxoplasma gondii*
EM BUBALINOS DA MESORREGIÃO SUL BAIANO**

Keila Patrícia Cardoso Rocha

**CRUZ DAS ALMAS – BA
2018**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS
IgG ANTI-*Neospora caninum* E ANTI-*Toxoplasma gondii*
EM BUBALINOS DA MESORREGIÃO SUL BAIANO**

Keila Patrícia Cardoso Rocha
Médica Veterinária
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Defesa de dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal em produção e manejo de ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro

**CRUZ DAS ALMAS – BA
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

R672p

Rocha, Keila Patrícia Cardoso.

Prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em bubalinos da Mesorregião Sul Baiano / Keila Patrícia Cardoso Rocha._ Cruz das Almas, BA, 2018.

58f.;il.

Orientador: Alexandre Moraes Pinheiro.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Búfalo – Doenças. 2. Búfalo – Sorologia veterinária. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD:636.08969

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS
IgG ANTI-*Neospora caninum* E ANTI-*Toxoplasma gondii*
EM BUBALINOS DA MESORREGIÃO SUL BAIANO**

Comissão Examinadora da Defesa de dissertação
Keila Patrícia Cardoso Rocha

Aprovada em: 19 de fevereiro de 2018

Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Orientador

Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Externo

Prof. Dr. Wendell Marcelo de Souza Perinotto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Sinvaldo Alves Rocha e Luzia de Oliveira Cardoso Rocha, aos meus irmãos Leily, Feliciano e Daniel, aos meus sobrinhos e ao meu esposo Pedro Vitor D. Brandão, pelo apoio e amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o qual me concedeu o folego da vida, agradeço-lhe Senhor meu e rocha minha por tudo que tens feito por mim, obrigada pelo seu amor infinito, pelas bênçãos e pela força para realizar o trabalho e vencer os obstáculos que encontrei durante minha jornada.

A toda minha família, pelo apoio, demonstrações de carinho e orações, em especial a minha mãe, meu pai, meus irmãos, avôs, tios, sobrinhos e esposo, os quais amo muito.

Ao meu orientador, Alexandre Moraes Pinheiro, que me acolheu durante esses dois anos, que me ensinou muitas coisas novas, que é e sempre será um grande exemplo, obrigada pela ajuda e cooperação.

Aos professores que participaram comigo dessa jornada.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

Aos proprietários e tratadores das fazendas, pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho de pesquisa.

Aos amigos, companheiros e colegas (Adrielle, Áureo, Brenda, Cleuza, Kaycky, Luana, Luciana, Marco, Pedro, Vinicius) e funcionários (Luana e Marcel) da Universidade que participaram de forma direta e indireta do meu aprendizado.

Aos demais amigos que, de alguma forma me ajudaram nesse período aqui em Cruz das Almas.

EPÍGRAFE

“Tudo o que te vier à mão para fazer,
faze-o conforme as tuas forças.”

Eclesiastes 9:10

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IgG
ANTI-*Neospora caninum* E ANTI-*Toxoplasma gondii*
EM BUBALINOS DA MESORREGIÃO SUL BAIANO**

RESUMO: Neosporose e toxoplasmose são enfermidades que acometem os animais domésticos. São caracterizadas por aborto, infertilidade e diminuição da produção, o que ocasiona grandes prejuízos à pecuária. Devido à importância da bubalinocultura na mesorregião sul baiano, o presente trabalho teve como objetivo investigar a prevalência de anticorpos IgG dessas enfermidades em soro de bubalinos nessa localidade. Foram coletadas amostras de soro em 363 búfalos (*Bubalus bubalis*), com sexo e de idade variadas. Os soros desses animais foram analisados pela técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para investigar a presença de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e apresentaram uma prevalência de 52,64% (191/363) animais soropositivos. Para a análise da presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* foi usado a técnica da hemoaglutinação indireta no qual foram encontrados 53 animais reagentes (14,60%). Conclui-se que há uma elevada prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* nas amostras de soro búfalos nessa região.

Palavras chave: Aborto; Bubalinocultura; Diagnóstico; Protozoários; Sanidade

PREVALENCE OF IgG ANTI-*Neospora caninum* ANTIBODIES AND ANTI-*Toxoplasma gondii* IN BUFFALOES IN THE SOUTH BAIANO MESOREGION

ABSTRACT: Neosporosis and toxoplasmosis are diseases that affect domestic animals. They are characterized by abortion, infertility and decreased production, which causes great losses to livestock. Due to the importance of bubalinoculture in the South Bahia mesoregion, the present study had the objective of investigating the prevalence of IgG antibodies of these diseases in serum of buffaloes in this locality. Serum samples were collected from 363 buffaloes (*Bubalus bubalis*), of varying sex and age. The serums of these animals were analyzed by the technique of Indirect Immunofluorescence (IFAT) to investigate the presence of anti-*Neospora caninum* IgG antibodies and presented a prevalence of 52.64% (191/363) seropositive animals. For the analysis of the presence of anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies, we used the indirect hemagglutination technique in which 53 reactive animals (14.60%) were found. We conclude that there is a high prevalence of anti-N IgG antibodies. *caninum* and anti-T. *gondii* in the buffalo serum samples in this region.

Key words: Abortion; Bubalinocultura; Diagnosis; Protozoa; Sanity

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1	A Bubalinocultura	2
2.2	Neosporose	4
2.2.1	Agente Etiológico	4
2.2.2	Impacto econômico	5
2.2.3	Epidemiologia.....	6
2.2.4	Transmissão.....	7
2.2.4	Sinais clínicos	8
2.2.5	Diagnóstico	8
2.2.6	Medidas de controle e prevenção.....	10
2.3	Toxoplasmose	12
2.3.1	Agente Etiológico	12
2.3.2	Epidemiologia.....	14
2.3.3	Transmissão.....	15
2.3.4	Sinais Clínicos.....	16
2.3.5	Diagnóstico	17
2.3.6	Medidas de controle e prevenção.....	18
	CAPÍTULO 1 – ALTA PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IGG ANTI-NEOSPORA CANINUM E ANTI-TOXOPLASMA GONDII EM BUBALINOS NO SUL DA BAHIA, BRASIL.	20
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
	APÊNDICE	39
	FORMULÁRIO DE ITENS EXIGIDOS EM CADA ETAPA DO TRABALHO	40
	IMPACTO CIENTÍFICO.....	41
	NORMAS DO PERIÓDICO	42

1. INTRODUÇÃO

O rebanho bubalino no Brasil no ano de 2016 foi de 1.370.941 cabeças (IBGE, 2017). O estado com a maior criação de búfalos é o Pará, com 493.646 cabeças, o que corresponde a 37,4% da participação do efetivo nacional, o Amapá é o segundo, com 285.778 cabeças (21,7%) e a Bahia com 25.128 cabeças, é o 10º estado no ranque de criador de bubalinos no Brasil, o que corresponde a 1,9% da participação do efetivo nacional. A maior mesorregião da Bahia em criação de bubalinos é o sul baiano, com 11.226 cabeças (IBGE, 2015).

Os bubalinos podem ser acometidos pelos protozoários *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* (DA SILVA *et al.*, 2017). As doenças causadas por esses parasitos são exemplos de enfermidades que acometem os animais de produção e causam impacto econômico para pecuária (BOWMAN, 2010), o que ocasiona diminuição da produção de leite, mortalidade embrionária, abortamento, problemas de fertilidade (BARTELS *et al.*, 2006), deficiência alimentar nos bezerros e animais com baixo peso na idade de abate (BARLING *et al.*, 2001).

A prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*, é observada mundialmente em diversas espécies (PRADO *et al.*, 2011; ALMERÍA, 2013; SHAAPAN, 2016), e bubalinos soropositivos por esses parasitas já foram detectados em diversos países inclusive no Brasil (SILVA *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2017).

Visto que a bubalinocultura é uma atividade importante para a mesorregião Sul baiano esse trabalho apresentou o objetivo de determinar a prevalência anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em amostras de bubalinos nessa região.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Bubalinocultura

O búfalo (*Bubalus bubalis*) é um animal de origem Asiática (BASTIANETTO *et al.*, 2009). A domesticação desse animal se deu entre 2500 e 1400 a.C., principalmente na Índia e na China, posteriormente foi levado para África, e finalmente introduzido na Europa e continente americano (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Estima-se que a população mundial de búfalos é de 195 milhões de cabeças, e 97,08% estão localizados na Ásia (Tabela 1) (FAO, 2016). Nos últimos dez anos houve um aumento anual de 18 milhões na distribuição do rebanho bubalino mundial (SETHI, 2010).

Tabela 1 Distribuição mundial do rebanho bubalino em 2014.

Continentes	Nº de animais	%
África	3.959.025,00	2,029%
América	1.326.495,00	0,680%
Brasil	1.319.478,00	0,676%
Ásia	189.417.674,00	97,088%
Europa	395.037,00	0,202%
Oceania	85,00	0,00004%
Mundo	195.098.316,00	100,00%

Fonte: Adaptado da FAO (2016).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - FAO (2016), o rebanho bubalino brasileiro é de aproximadamente 1,3 milhões de cabeças, o que equivale a 99% do total do rebanho das Américas.

Esses animais foram introduzidos, pouco mais de um século, no Brasil, na Ilha de Marajó, e se dispersaram por todo o país e adaptaram-se bem aos climas, mostrando desempenho produtivo superior ao apresentado no continente Asiático (DAMÉ *et al.*, 2013).

O rebanho bubalino da Bahia, segundo o IBGE (2015), é de 25.128 cabeças, o que corresponde a 1,9% da participação do efetivo nacional. A maior mesorregião da Bahia em criação de bubalinos é o Sul baiano, com 11.226 cabeças, seguido do Centro sul baiano com 4.964 cabeças.

A bubalinocultura é uma alternativa na produção animal, visto que os búfalos são animais que possuem múltiplas funções: dentre elas temos a produção de carne, leite e tração, e essa última é uma prática comum em muitos países (OLIVEIRA *et al.*, 2013), incluindo a região Norte do Brasil (DAMÉ *et al.*, 2013).

No Brasil as criações de búfalos visam principalmente à produção de carne e leite (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Existem varias doenças que podem interferir na produção e na qualidade sanitária da reprodução, do leite e da carne (OLIVEIRA, 2006). Dessa forma o manejo sanitário na produção animal tem a finalidade de impedir que doenças interfiram no desempenho produtivo e reprodutivo do rebanho, dentre elas se destacam: a neosporose, toxoplasmose, brucelose e leptospirose (FUJII, 2001), enfermidades que causam problemas reprodutivos e consequentemente perdas reprodutivas e produtivas.

2.2 Neosporose

2.2.1 Agente Etiológico

O protozoário *Neospora caninum* foi descrito pela primeira vez em 1984, como semelhante ao *T. gondii*. Observado em cães, raça Boxer, na Noruega, os quais apresentaram lesões inflamatórias e necrose no músculo esquelético e sistema nervoso central, o que causava uma sintomatologia de paralisia dos membros posteriores (BJERKAS, 1984).

Esse autor relata que apesar da semelhança, na presença do teste Sabin Feldman esses cães não apresentavam anticorpos anti-*T. gondii*. Em 1988, reavaliaram 23 casos de cães com diagnóstico de toxoplasmose, e 10 desses, não eram reativos a anticorpos anti-*T. gondii*, assim denominaram-no de *N. caninum* (DUBEY et al., 1988).

O agente causador da neosporose pertence ao filo Apicomplexa, classe Coccidia, ordem Eimeriida, família Sarcocystidae, Subfamília Toxoplasmatinae, é um protozoário intracelular obrigatório (ALMERÍA, 2013; KLAUCK et al., 2016). O gênero *Neospora* possui além da espécie conhecida como *N. caninum*, a espécie, *N. hughesi* isolada em equinos (MCALLISTER, 2016).

Esse agente possui três estágios infecciosos: taquizoítos, bradizoítos (em cistos teciduais) e os esporozoítos, após esporulação dos oocistos no meio ambiente (SHAAPAN, 2016).

Ainda segundo o mesmo autor os taquizoítos é um estágio que ocorrem no meio intracelular. Os taquizoítos possuem cerca de 6 X 2 µm, o *N. caninum* provoca a morte celular, pelo intermédio da multiplicação dos taquizoítos, os quais atingem as células alvo dos animais pelo sangue e vasos linfáticos (KLAUCK et al., 2016). Os bradizoítos estão localizados nos cistos teciduais e cada cisto tecidual pode conter 20-100 bradizoítos, já os cistos teciduais têm uma parede espessa que protege os bradizoítos do hostil ambiente extracelular formado pelo hospedeiro durante a resposta imune (SILVA e MACHADO, 2016). Ele foi caracterizado por ter uma parede espessa, são geralmente na

forma redonda ou oval (SHAAPAN, 2016) e são encontrados primariamente no sistema nervoso central (SILVA e MACHADO, 2016).

Os oocistos têm cerca de 10 X 11 µm de diâmetro (MCALLISTER, 2016). Os oocistos são o estágio resistente do parasito, podem ser encontrados nas fezes do hospedeiro definitivo, os quais podem sobreviver por meses ou anos no ambiente (SILVA e MACHADO, 2016).

2.2.2 Impacto econômico

A neosporose raramente é a causa de restrições no comércio regional ou internacional, a sua importância econômica reside no seu efeito sobre as perdas na esfera reprodutiva dos animais de produção (ALMERÍA, 2013; SHAAPAN, 2016).

As perdas reprodutivas podem ocorrer no quarto mês de gestação, mas a maioria costuma ocorrer entre o quinto a sétimo mês (MCALLISTER, 2016), com alta mortalidade embrionária e aborto, respectivamente, de 10-20% dos abortos na produção leiteira geralmente são por conta de infecção por *N. caninum* (BOWMAN, 2010).

Para a produção leiteira o impacto econômico associado ao aborto acarreta em custos referentes a perda do feto e a diminuição da produção de leite (MCALLISTER, 2016). Podendo ter uma redução na produção de leite de até 0,72 kg de leite/dia, durante os primeiros 100 dias de lactação (BARTELS *et al.*, 2006).

McAllister (2016), relata que essa redução da produção de leite é esperada devido à interferência com o tempo e o comprimento da lactação e os períodos secos, condicionamento do corpo e saúde do úbere.

As perdas nas indústrias de corte e leite devido a esse parasito têm aumentado (REICHEL *et al.*, 2013). Segundo Wilson *et al.* (2016) a neosporose é mais prevalente em raças leiteiras que nas raças de corte.

Nas indústrias de corte esse agente causa uma deficiência alimentar nos bezerros, que conseqüentemente ocasiona redução significativa no ganho de peso pós-desmame (BARLING *et al.*, 2001).

Existem estudos sobre a presença da infecção por *N. caninum* em bubalinos, sendo sugerido que a neosporose também pode determinar perdas reprodutivas nessa espécie (SILVA et. al., 2010; DA SILVA et al., 2017).

2.2.3 Epidemiologia

Esse parasito foi transmitido experimentalmente em bovinos, ovinos, caprinos, suínos, cães, gatos e roedores, e foram encontradas naturalmente os cistos em bovinos, ovinos, caprinos, veados e cavalos, observados dessa forma em vários hospedeiros intermediários descritos (ALMERÍA, 2013).

Evidência sorológica em animais selvagens e domésticos indica que muitas espécies têm sido expostas a este parasito (DUBEY e SCHARES, 2011). Entretanto *N. caninum* não é considerada zoonose (GONDIM et al., 2017).

Os hospedeiros definitivos são os cães (MCALLISTER, 2016; GUIDO et al., 2016), coiotes (GONDIM et al., 2004), os dingos (KING et al., 2010) e os lobos (DUBEY et al., 2011; DUBEY et al., 2014).

Da Silva et al., (2017) relatam que em áreas no qual bovino e bubalinos estão sujeitos ao mesmo manejo sanitário e a mesma gestão zootécnica, a transmissão vertical é a responsável pela alta prevalência de *N. caninum* em bovinos e bubalinos, e que a presença de canídeos silvestres e domésticos nas fazendas facilita o desenvolvimento de um ciclo completo do parasito e a sua persistência no rebanho.

Os estudos sorológicos nessa espécie demonstraram na Bahia soroprevalência de 35,9% (GONDIM et al., 2007), na Amazônia 88,21% (VIANA et al., 2009), em São Paulo foram de 56% (SOUZA et al., 2001), de 63,9% (FUJII et al., 2001) e de 79% (RODRIGUES et al., 2005), no Pará de 70,9% (GENNARI et al., 2005), 40,9% (SILVA et. al., 2010) e 44% (DA SILVA et al., 2017). Vogel et al. (2006) detectaram 14,6% de animais positivos em três propriedades testadas no Rio Grande do Sul.

2.2.4 Transmissão

Esse parasito tem um ciclo heteroxeno facultativo, com duas fases de reprodução, assexuada e sexuada, hospedeiros intermediários e hospedeiros definitivos, respectivamente (GUIDO *et al.*, 2016).

A transmissão horizontal se dá por ingestão de tecidos contendo cistos viáveis, ou por meio de alimentos e água contaminados por oocistos esporulados (BARTLEY *et al.*, 2013).

O hospedeiro definitivo elimina nas fezes os oocistos não esporulados, após esporulação no ambiente, esses se tornam infectantes (SHAAPAN, 2016). Um exemplo disso, segundo esses autores, é quando os ruminantes se infectam com *N. caninum*, ao alimentar-se de pastagens contaminadas por oocistos liberados pelos cães podendo ocorrer o contrário, quando os cães se alimentam com placenta desses animais infectados para *N. caninum*.

A transmissão vertical ou via transplacentária em ruminantes pode ser endógena, ou seja, quando o animal já é parasitado pelo agente e ocorre uma reativação da infecção em fêmeas prenhes devido à imunossupressão fisiológica da gestação, e via exógena, que é quando se adquire a enfermidade durante a gestação e causa a infecção no feto (MCALLISTER, 2016).

Contudo, a transmissão do parasito da fêmea prenhe para o feto vai depender da quantidade e duração da parasitemia, da eficácia da resposta imune materna e do feto, podendo assim não ocasionar aborto, mesmo assim a cria pode nascer infectada (SILVA e MACHADO, 2016).

Demonstrando que a via endógena acaba sendo a responsável pela manutenção da neosporose no rebanho, isso possivelmente poderá manter a infecção por várias gerações (MCALLISTER, 2016).

A taxa de transmissão vertical é uma rota importante da transmissão e manutenção da neosporose, sendo que o animal pode nascer infectado, porém assintomático. Por isso, é de suma importância o acompanhamento sorológico, evitando assim a presença de animais portadores, que sirvam como reservatórios (HEIN *et al.*, 2012).

2.2.4 Sinais clínicos

Essa enfermidade pode está associada a casos de aborto e mortalidade neonatal em bovinos e búfalos (DA SILVA *et al.*, 2017).

Há relatos de diferentes períodos de ocorrência de abortos, entretanto, se a infecção ocorre no final da gestação geralmente não haverá o aborto (ANDREOTTI *et al.*, 2003), mas possivelmente terá nascimento de bezerros infectados congenitamente, contudo, clinicamente saudável, raramente, apresentaram sinais nervosos (SHAAPAN, 2016).

Segundo Andreotti *et al.* (2003), mais de 30% das vacas em gestação abortam por consequência da neosporose e em animais jovens pode haver presença de sinais neurológicos e de polimiosite. Em bovinos e bubalinos adultos, a ocorrência de abortos também pode ocasionar retenção de placenta, nascimento de bezerros natimortos, fetos podem morrer no útero e serem reabsorvidos, mumificados ou autolizados (DUBEY e SCHARES, 2006).

Animais soropositivos apresentaram um risco 7,21 vezes maior de possuir histórico de aborto (HEIN *et al.*, 2012), por causa da transmissão vertical, vistos que essa, é uma rota de manutenção da neosporose.

2.2.5 Diagnóstico

Diagnósticos laboratoriais são de suma importância para confirmar a enfermidade, assim existem vários métodos de diagnósticos para essa enfermidade, métodos que indicam a presença do agente, como: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), inoculação, parasitológico, histológico, Imunohistoquímica (DUBEY e SCHARES, 2006).

A Reação em Cadeia da Polimerase identifica os ácidos nucléicos dos parasitos. Esse foi o teste que possibilitou a caracterização molecular desse agente. Trata-se de um teste altamente sensível e específico, que amplifica quantidades muito pequenas de DNA (SILVA, 2004), em diferentes cortes

teciduais, ou amostras de líquido, em fezes do hospedeiro definitivo (DUBEY e SCHARES, 2006; GONDIM *et al.*, 2004).

O Isolamento e Inoculação são utilizados para a obtenção de cepas, estudos de patogenia e diagnóstico de infecção. Esse tipo de diagnóstico é feito através de cultivos celulares (células Vero, Marc, monócitos bovinos) ou por inoculação em animais de laboratório (SILVA, 2004). A identificação do parasito pode ser confirmada por PCR (SANTOS *et al.*, 2011).

O exame parasitológico é realizado no hospedeiro definitivo, a fim de identificar os oocistos nas fezes, entretanto, devido à semelhança com outros oocisto de outros parasitos, existe a necessidade de saber a qual a origem do oocisto (MCALLISTER, 2016). Assim, esse autor sugere o uso do PCR, para identificar de qual parasito se trata, confirmando o resultado do exame parasitológico.

O exame histológico é um método usado no diagnóstico de aborto por esse agente, dessa forma, coletam-se amostras de tecidos do feto (cérebro, coração e fígado) e da placenta. Mesmo se as lesões encontradas forem sugestivas de neosporose, deve-se confirmar pelo imunohistoquímica (SILVA, 2004; DUBEY e SCHARES, 2006). A Imunohistoquímica detecta taquizoítos e bradizoítos de *N. caninum* fixados em formalina e parafinados, utilizando a técnica do complexo avidina-biotina-peroxidase que confirma a presença de restos de antígenos (SILVA, 2004).

Além dessas, existem técnicas que identificam a presença de anticorpos, conhecidos como testes sorológicos, esses são importantes, visto que a principal resposta imunológica na proteção contra *N. caninum* é a do tipo T helper 1 (Th1) que se caracteriza pela citosina IFN- γ (TANAKA *et al.*, 2000) e pela imunoglobulina IgG, a qual permiti a inibição da multiplicação dos taquizoítos (ANTONELLO *et al.*, 2015).

Segundo Cadore, *et al.* (2010) relataram que tanto a IgG quanto a IgM podem ser marcadores da infecção transplacentária em fetos de ruminantes, contudo, os anticorpos IgG foram detectados com maior frequência do que IgM.

Os diagnostico sorológico mais usados para identificação de anticorpos contra *N. caninum* são: a imunofluorescência indireta (RIFI), imunoenzimático (ELISA), imunoblotting e imunoprecipitação (GUIDO *et al.*, 2016). Ainda de acordo com esses autores o diagnóstico sorológico desempenha um papel

crucial na identificação de animais infectados por isso, vários testes foram desenvolvidos.

Se um teste sorológico é positivo, significa que o animal foi exposto ao agente, contudo, não significa dizer que esse animal está doente. Por isso é importante que os testes sejam confirmados por meio de testes confirmatórios (ANDREOTTI *et al.*, 2003).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é usada para detectar anticorpos anti-*N. caninum*. Inicialmente foi desenvolvido para detectar anticorpos desse agente em cães, contudo essa técnica já é utilizada hoje em várias espécies animais, tanto silvestres quanto domésticos (DUBEY e LINDSAY, 1996). Na realização da técnica, os taquizoítos inteiros são fixados nas lâminas, e necessita de um conjugado, anti anticorpo marcado espécie-específico, para detectar os anticorpos (DA SILVA *et al.*, 2017).

2.2.6 Medidas de controle e prevenção

O conhecimento do ciclo de vida do parasito é de suma importância para o controle da neosporose, principalmente para o desenvolvimento de técnicas para diagnóstico e de vacinas, entretanto, ainda não existe tratamento ou vacina eficaz (ALMERÍA, 2013).

As medidas de controle dependem da biossegurança e da prática de gestão (GUIDO *et al.*, 2016). Como são poucos os métodos efetivos para o controle da neosporose em ruminantes, o controle pode ser realizado por meio de práticas de manejo as quais tentam eliminar ou reduzir a infecção e os prejuízos causados pelo agente. Deve-se eliminar animais que tiveram aborto e buscar a aquisição de animais negativos (HEIN *et al.*, 2012).

O controle deve ser contínuo para evitar uma alta prevalência de infecção ou reduzir taxa da prevalência (PRUVOT *et al.*, 2014). De acordo Mcallister (2016) a chave para o sucesso nesse controle reside na proteção de alimentos para animais devido à contaminação com fezes caninas. O controle

do acesso de cães e outros animais às criações evitam possíveis perdas econômicas ao rebanho (DUBEY e SCHARES, 2011).

Nas pequenas empresas, isso pode ser feito mantendo alimentos em caixotes, silos ou portas fechadas, e em grandes laticínios mecanizados, investimentos é necessário para proteger os alimentos para animais, a melhor solução poderia ser a instalação de barreiras impedindo o acesso de cães e outros animais (MCALLISTER 2016). Outra precaução que se deve ter é com a quarentena, para animais recentemente adquiridos e a realização de teste de diagnóstico para esses animais (SHAAPAN, 2016).

A correta destinação do aborto, para evitar a ingestão, visto que, cães em áreas rurais, alimentam-se de carne ou vísceras cruas, o que propicia a transmissão horizontal. A alimentação desses animais deve ser feita com rações comerciais para cães, dessa forma, é importante separar esses animais do contato com bovino e bubalino (HEIN et al., 2012).

2.3 Toxoplasmose

2.3.1 Agente Etiológico

O *Toxoplasma gondii* pertencente ao reino protista do filo Apicomplexa cuja classe é a Coccidia, ordem Eimeriida, família Sarcocystidae, Subfamília Toxoplasmatinae (MORRISSETTE e AJIOKA, 2009), esse parasito é um protozoário do gênero *Toxoplasma*, descrito pela primeira vez há mais de um século, na Tunísia por Charles Nicolle e Louis Manceaux nos tecidos de um roedor (*Ctenodactylus gundi*) (PRADO *et al.*, 2011). No Brasil, por Splendore na mesma época, também verificou a presença deste parasito nos tecidos de um coelho (MORRISSETTE e AJIOKA, 2009).

Trata-se de um protozoário intracelular obrigatório (ZOU *et al.*, 2015), de distribuição mundial, que acomete os animais de sangue quente, selvagens e domésticos (LEAL e COELHO, 2014). Parasito conhecido por causar abortos, natimortos e distúrbios reprodutivos (SHAAPAN, 2016), em que os hospedeiros definitivos são os felídeos (HILL e DUBEY, 2016).

Os hospedeiros definitivos, quando infectados, são os únicos que podem excretar oocistos (DUBEY *et al.*, 2009). Assim, esses eliminam oocistos no ambiente que irá esporular e se tornam infectantes (DUBEY, 2008). Já os hospedeiros intermediários, são aqueles que abrigam as outras formas evolutivas nos tecidos (DUBEY *et al.*, 2009).

Esse parasito possui três estágios infecciosos: esporozoítos (em oocistos), taquizoítos (formas proliferativas) e bradizoítos (em cistos de tecido), sendo esses dois últimos encontrados em tecidos e o primeiro nas fezes e após a esporulação no ambiente (SHAAPAN, 2016).

Conforme Hill e Dubey (2016) o nome "*Toxoplasma*" é derivado do grego *toxon* que significa arco, e *plasma* que significa forma, ou seja, possuindo uma aparência semelhante ao de um arco. Essa forma é derivado da forma crescente do estágio do taquizoíto, onde uma das extremidades é mais afilada

e a outra mais arredondada. Nessa forma, o parasito mede aproximadamente de 6 μm de comprimento por 2 μm de largura (PRADO *et al.*, 2011).

Os taquizoítos são a forma mais rápida de multiplicação do parasito, composto pelo conóide e por organelas secretórias especializadas, as róptrias e micronemas, ele também apresenta núcleo e organelas (SOUZA *et al.*, 2010). Ainda segundo esses autores o núcleo encontra-se na região mediana e acima deste está o complexo de Golgi e o apicoplasto.

O taquizoíto entra na célula hospedeira por penetração ativa da membrana hospedeira e após isso, ele passa para forma ovoide e fica cercado por um vacúolo parasitóforo (vacúolo parasitóforo) (HILL e DUBEY, 2016). O *T. gondii* na forma de taquizoítos dentro desse vacúolo parasitóforo é protegido contra mecanismos de defesa do hospedeiro (SOUZA *et al.*, 2010).

O taquizoíto se multiplica na célula hospedeira por endodiogenia, ou seja, divisões repetidas em que duas progênies se formam dentro o parasito parental, continuam a dividir até que a célula hospedeira seja preenchida com parasitos (HILL e DUBEY, 2016). Esses autores ainda relatam que após algumas divisões, *T. gondii* forma cistos tecidual que medem aproximadamente 5 a 70 μm de diâmetro e possuem uma parede elástica e fina (<0,5 μm). Nele encontram-se centenas de forma crescente conhecida como bradizoítos.

O bradizoíto é a forma do parasito de multiplicação lenta dentro do cisto (PRADO *et al.*, 2011) e podem ser encontrados em vários tecidos de vertebrado, exceto em hemácias de mamíferos (LEAL e COELHO, 2014).

Já os esporozoítos assim como os taquizoítos, apresentam micronemas, roptrias e grânulos de amilopectina, e esses se encontram nos oocistos, os quais são esféricos, medindo aproximadamente de 12,5 x 11,0 μm (PRADO *et al.*, 2011).

No hospedeiro definitivo ocorre o ciclo enteroepitelial, em que ao ingerir o alimento contendo o cisto, os bradizoitos são liberados e penetram nas células epiteliais do intestino delgado, após isso, iniciam-se cinco estágios assexuados, os quais são equivalentes aos esquizontes de outros coccídios intestinais (DUBEY *et al.*, 2009). Ainda esses autores relatam que após varias gerações, merozoitos são liberadas e formam gametas masculino e feminino para a formação dos oocistos, também ressalta-se que os bradizoítos são mais infectantes para os gatos que os oocistos.

2.3.2 Epidemiologia

Essa parasitose é uma antropozoonose de distribuição universal que já infectou milhões de pessoas no mundo. Diante disso, ela tem grande importância para a saúde pública, visto que o ser humano pode infectar-se através de ingestão de cistos viáveis (PRADO *et al.*, 2011).

Levantamentos com uma baixa prevalência de anticorpos anti *T. gondii* em búfalos no Egito (DUBEY *et al.*, 1998a), Vietnã (HUONG *et al.*, 1998), Irã (NAVIDPOUR e HOGHOOGHI-RAD, 1998), no Brasil, (Bahia (GONDIM *et al.*, 1999), São Paulo (FUJII, 2001) e Pará (SILVA *et al.*, 2010)).

Acredita-se que a baixa ocorrência da infecção ocorre devido à transmissão ser por ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos eliminados nas fezes de felídeos. Uma vez que os hábitos dos búfalos, que para fazer sua termorregulação buscam a maior parte do tempo ficar em locais lodosos ou em aguadas, vivendo assim longe do convívio dos felinos. Talvez explique a baixa prevalência nessa espécie, além de suas condições de manejo (HUONG *et al.*, 1998; NAVIDPOUR e HOGHOOGHI-RAD, 1998). Entretanto isso vem mudando e têm sido evidenciadas altas prevalências em 2013 e 2017 nessa espécie, no México (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2014) e no Brasil (DA SILVA *et al.*, 2013; DA SILVA *et al.*, 2014; DA SILVA *et al.*, 2017).

No estado de Veracruz, no México, a infecção por *T. gondii* em bubalinos (*Bubalus*), apresentou uma prevalência de 48,7%. Esse estudo também indicou que as características ambientais (incluindo altitude, temperatura média anual e a média anual de precipitação dos municípios estudados) podem influenciar a soroprevalência desse patógeno em búfalos (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2014).

No Brasil a frequência varia de acordo com a região, a população examinada e os testes empregados no diagnóstico. Observa-se uma incidência de 3,85% de soropositividade em búfalos na Bahia (GONDIM *et al.*, 1999), no Pará de 1,1% (SILVA *et al.*, 2010) também nessa região outros estudos apresentaram a prevalência de 41,6% (186/447) (DA SILVA *et al.*, 2013),

41,33% e 35,77%, por ELISA e IFAT, respectivamente (DA SILVA *et al.*, 2014), e 39% (DA SILVA *et al.*, 2017), em São Paulo foram 3,2% (FUJII *et al.*, 2001).

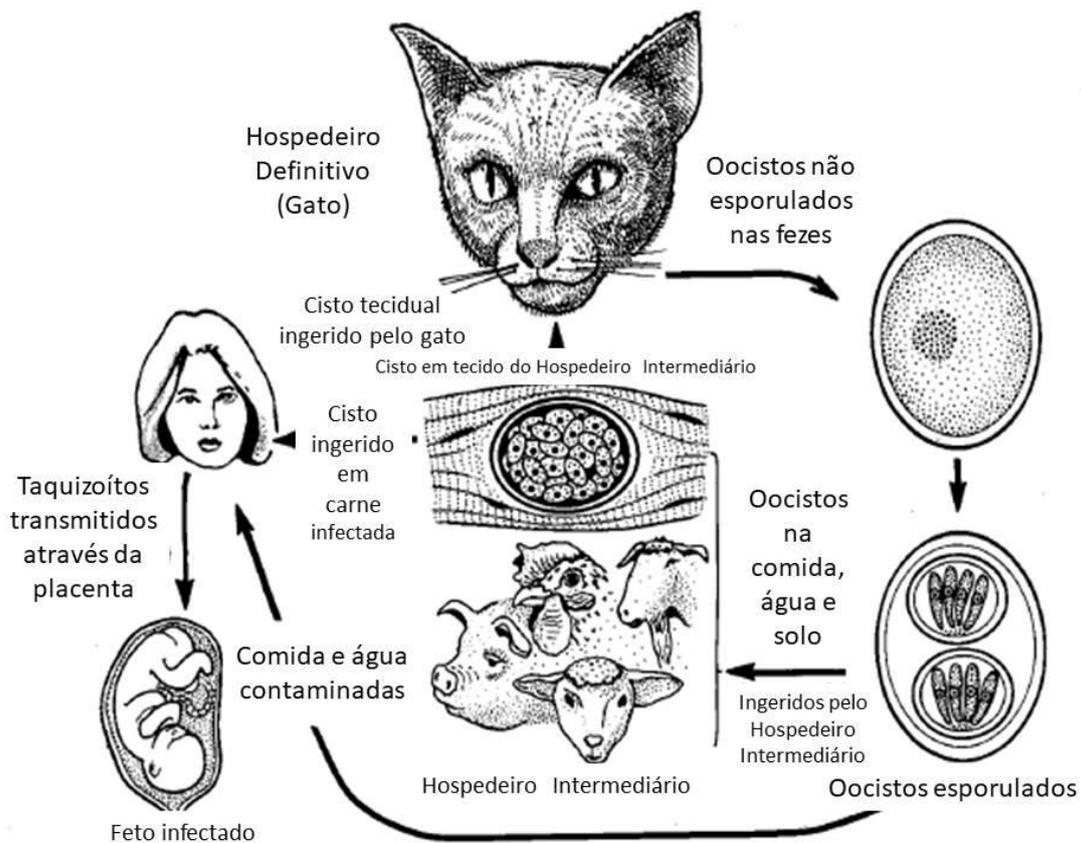
A infecção em búfalos (*Bubalus bubalis*) por essa enfermidade é de extrema importância epidemiológica para a produção animal, devidos às perdas reprodutivas, produtivas geradas para pecuária e para a saúde pública, principalmente, nas regiões que há costume de consumo dessa carne (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2014).

2.3.3 Transmissão

T. gondii possui três vias de transmissão: infecção congênita, ingestão de tecidos infectados, e de alimentos contaminados ou água com oocistos esporulados (Figura 1). A infecção congênita foi confirmada em animais e seres humanos. A transmissão pode ocorrer pela via transplacentária (CENCI-GOGA *et al.*, 2011; DUBEY, 2008). Caso o feto seja infectado no início da gestação, poderá apresentar má formação, calcificações cerebrais, hidrocefalia, retinocoroidite, cegueira e aborto. Entretanto, se a infecção ocorrer no final da gestação, sendo o primeiro contato da progenitora com o protozoário, isso faz com que a probabilidade que o feto se infecte seja maior, porém as consequências para o mesmo serão menores (DUBEY, 2008; DUBEY *et al.*, 2012).

A toxoplasmose pode ser transmitida através da água, devido esse patógeno sobreviver e esporular no mar e permanecer viável por mais ou menos 6 meses, essa enfermidade já foi identificada em mamíferos marinho. Animais silvestres e rurais se contaminam através de alimentos e água contaminados por oocistos, carnívoros pode contaminar-se pela alimentação de carne crua e através da cópula (sêmen) (DUBEY e LAPPIN, 2015; PETERSEN *et al.*, 2010).

Figura 1 Ciclo Biológico do *T. gondii*.



Fonte: Adaptado de Dubey *et al.*, 1998b.

O ser humano pode infectar-se também por via oral, através de ingestão de cistos viáveis em carne crua ou mal passada, de crustáceos e moluscos crus, vegetais crus, leite sem ferver, a água contaminada e manipulação de terra contaminada com oocistos, entre outros (DUBEY e LAPPIN, 2015; PRADO *et al.*, 2011).

2.3.4 Sinais Clínicos

Em grandes ruminantes, *T. gondii* pode causar aborto, entretanto, geralmente esse parasito não causa sintomatologia clínica específica, não há relatos da sintomatologia clínica em búfalos (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2014).

Infecções em bovinos constaram sinais clínicos como febre, problemas respiratórios (dispnéia) e sinais nervosos, entre os quais ataxia e hiperexcitabilidade na fase inicial, seguidas de extrema letargia (PRADO *et al.*, 2011). Bezerros com infecção congênita apresenta febre, dispnéia, tosse, espirros, corrimento nasal, convulsões, ranger dos dentes e tremores ou podem nascer bezerros fracos, que morrem logo após o nascimento (PRADO *et al.*, 2011).

Os sinais clínicos observados na infecção experimental em ruminantes com uso de duas estirpes incluíam diarreia, anorexia, febre, diminuição no ganho de peso, fraqueza, depressão, dispneia (alterações respiratórias) (FAYER e FRENKEL, 1979).

2.3.5 Diagnóstico

Existem vários exames laboratoriais válidos para o diagnóstico de *T. gondii*. Dentre eles temos métodos que indicam a presença do agente e os testes de sorologia (identificam o anticorpo), geralmente o anticorpo IgG específico de toxoplasma aparece 2-3 semanas após infecção aguda e persiste por toda a vida, já o anticorpo IgM sugere infecção precoce e presença de anticorpos IgA associado a infecção aguda (SHAAPAN, 2016).

Os testes sorológicos mais comuns para o diagnóstico de *T. gondii*. são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), hemoaglutinação indireta (IHA), o teste Sabin-Feldmann, teste ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) e o teste de aglutinação modificado (DUBEY, 2008).

Os animais infectados abrigam os cistos teciduais para o resto da vida, e esses vão estimular a resposta inume humoral a longo prazo em adultos infectados. Os testes sorológicos podem dar diretrizes para saber se o animal está infectado (DUBEY e LAPPIN, 2015).

O teste do corante azul de metileno foi introduzido por Albert Sabin e Harry Feldman em 1948 por foi talvez o maior avanço no campo da toxoplasmose (DUBEY, 2008). Esse teste requer organismos vivos na sua

realização e baseia-se na incapacidade de taquizoítos para absorver o corante na formação do imunocomplexo. É uma técnica de alto custo e seu uso é restrito para laboratórios especializados (OZKAN *et al.*, 2008). O teste de corante é altamente sensível e específico e a capacidade para identificar infecções de *T. gondii* com base em um teste sorológico simples abriu a porta para estudos epidemiológicos extensivos sobre a incidência de infecção (DUBEY, 2008).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é preferível, devido à sua segurança e facilidade de execução, pois não requer o organismo vivo. Trata-se de um teste mais simples, que pode ser adaptado para detectar IgM, IgG ou IgA quando se faz utilização de antígeno total ou com marcação imune (DUBEY e LAPPIN, 2015).

Esse teste possui uma boa sensibilidade e especificidade quando comparado com o teste Sabin-Feldmann. Já o ELISA indireto (teste ensaio imunoenzimático indireto) consegue detectar uma infecção recente através da estimativa de anticorpos IgM, quando comparados a IgG (DUBEY e LAPPIN, 2015; OZKAN *et al.*, 2008).

O teste de hemaglutinação indireta (HAI) é também usado para pesquisar anticorpos anti-*T. gondii*. Esse é um teste prático e simples de se desenvolver e assim como a RIFI pode substituir a reação de Sabin-Feldman.

2.3.6 Medidas de controle e prevenção

O controle do rebanho pode ser feito por meio de práticas de manejo adequada, visto que não existe um tratamento completamente satisfatório e também não existem vacinas viáveis e eficazes para prevenir a infecção por *T. gondii* (DUBEY e JONES, 2008).

Ações que visam eliminar ou reduzir a infecção e os prejuízos causados pelo agente, esbarram em dificuldades inerentes a contaminação do meio ambiente com oocistos esporulados (TENTER *et al.*, 2000). Ainda segundo

esses autores, os animais a pasto têm um maior risco de infecção, devido ao contato com o solo, pastagens e água contaminada.

Assim deve-se fazer o controle do acesso de gatos e outros animais do convívio com as criações, cobrindo as rações para impedir o acesso de gatos e insetos, reduzindo assim contaminação por oocistos de *T. gondii*. Além disso, as vísceras de animais e produtos de aborto precisam ser enterradas para evitar possíveis contaminações (SHAAPAN, 2016). Portanto, medidas de higiene devem ser praticadas, essa é a melhor opção para minimizar a transmissão de *T. gondii*.

CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1 “ALTA PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Neospora caninum* E ANTI-*Toxoplasma gondii* EM BUBALINOS NO SUL DA BAHIA, BRASIL”

Artigo a ser submetido ao Periódico Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Qualis B1 na Área Zootecnia/Recursos Pesqueiros.

ALTA PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Neospora caninum* E ANTI-*Toxoplasma gondii* EM BUBALINOS NO SUL DA BAHIA, BRASIL

HIGH PREVALENCE OF ANTIBODIES IgG ANTI-*Neospora caninum* AND ANTI-*Toxoplasma gondii* IN BUBALINS IN THE SOUTH OF BAHIA, BRAZIL

Keila Patrícia Cardoso Rocha; Alexandre Moraes Pinheiro*

Laboratório de Bioquímica e Imunologia Veterinária, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

* e-mail: amp@ufrb.edu.br

ABSTRACT: Due to the importance of bubalinculture for this region, the present study aimed to investigate the presence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in buffalo serum at different properties of the southern Bahia mesoregion. The sera of these animals were analyzed by the technique of Indirect Immunofluorescence (IFAT) to verify the presence of anti-*N. caninum* IgG antibodies at a 1: 200 cut-off point and a prevalence of 52.61% (191/363) of seropositive animals was obtained. Analysis of anti-*T. gondii* IgG antibodies was performed using the indirect hemagglutination technique with a cut-off point of 1:64, in which 14.60% (53/363) animals were found to be toxic to toxoplasmosis. According to the statistical analysis carried out in the study population, no significant difference was found between the response variables (seropositivity) and explanatory variables (risk factors), however, a high prevalence of anti-*N. caninum* IgG antibodies was observed and anti-*T. gondii* in buffalo serum samples in Bahia, Brazil, when compared to other studies in this region.

Keywords: Buffalo; Diagnosis; Neosporosis; Serology; Toxoplasmosis

RESUMO: Devido à importância da bubalinocultura para essa região, o presente trabalho teve como objetivo investigar a presença de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soro de bubalinos em diferentes propriedades da mesorregião sul baiano. Os soros desses animais foram analisados pela técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para verificação a presença de anticorpos IgG anti-*N. caninum* num ponto de corte 1:200 e obteve-se uma prevalência de 52,61% (191/363) de animais soropositivos. A análise de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi realizada utilizando-se à técnica da hemoaglutinação indireta com um ponto de corte

1:64, no qual foram encontrados 14,60% (53/363) animais reagente para toxoplasmose. De acordo com a análise estatística realizada na população estudada, não foi encontrado significância entre as variáveis respostas (soropositividade) e as variáveis explicativas (fatores de risco), entretanto, observa-se uma elevada prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e de anti-*T. gondii* nas amostras de soro dos búfalos na Bahia, Brasil, quando comparados com outros estudos nessa região.

Palavras-chave: Búfalo; Diagnóstico; Neosporose; Sorologia; Toxoplasmose

1. INTRODUÇÃO

A neosporose e a toxoplasmose são parasitoses de distribuição mundial que causam distúrbios reprodutivos e produtivos em animais (ALMERÍA, 2013; SHAAPAN, 2016). Essas doenças são causadas pelos protozoários *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*. Ambos são parasitos intracelulares obrigatórios (ALMERÍA, 2013; KLAUCK *et al.*, 2016; ZOU *et al.*, 2015; LEAL e COELHO, 2014), que pertencem ao filo Apicomplexa, da família Sarcocystidae (SHAAPAN, 2016; MORRISSETTE e AJIOKA, 2009).

O. N. caninum apresenta os canídeos como hospedeiros definitivos (MCALLISTER, 2016), enquanto *T. gondii* tem os felinos como hospedeiro definitivo (HILL e DUBEY, 2016; LEAL e COELHO, 2014). Diversas espécies são hospedeiros intermediários de ambos os parasitos (ALMERÍA, 2013; DUBEY *et al.*, 2009).

Há prevalência em diferentes países do mundo de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em búfalos (*Bubalus bubalis*), estudos indicam que essa é menor do que a prevalência para anticorpos IgG anti-*Neospora*, sugerindo que esses animais são mais resistentes a toxoplasmose (DUBEY *et al.*, 1998a; HUONG *et al.*, 1998; NAVIDPOUR e HOGHOOGHI-RAD, 1998; GONDIM *et al.*, 1999; FUJII *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2010).

A pesquisa de anticorpos IgG anti-*N. caninum* já foi descrita em vários estados do Brasil: na Amazônia 88,21% (VIANA *et al.*, 2009); em São Paulo foram de 56% (SOUZA *et al.*, 2001); de 63,9% (FUJII *et al.*, 2001) e de 79% (RODRIGUES *et al.*, 2005); no Pará de 70,9% (GENNARI *et al.*, 2005), 40,9% (SILVA *et al.*, 2010) e 44% (DA SILVA *et al.*, 2017); no Rio Grande do Sul 14,6% (VOGEL *et al.*, 2006); na Bahia a soroprevalência é de 35,9% (GONDIM *et al.*, 2007).

A prevalência para anticorpos IgG anti-*T. gondii*, mostra uma prevalência de 3,85% de soropositividade na Bahia (GONDIM *et al.*, 1999), no Pará de 1,1% (SILVA *et al.*, 2010) também nessa região outros estudos apresentaram a prevalência de 41,6% (186/447) (DA SILVA *et al.*, 2013), 41,33% e 35,77%, por ELISA e IFAT, respectivamente (DA SILVA *et al.*, 2014), e 39% (DA SILVA *et al.*, 2017), em São Paulo foram 3,2% (FUJII *et al.*, 2001).

O presente trabalho determinou a prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em bubalinos da mesorregião Sul baiano no estado da Bahia, além de correlacionar os fatores de risco relacionados a essas doenças, visto que esta mesorregião é a de maior produção do estado da Bahia, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

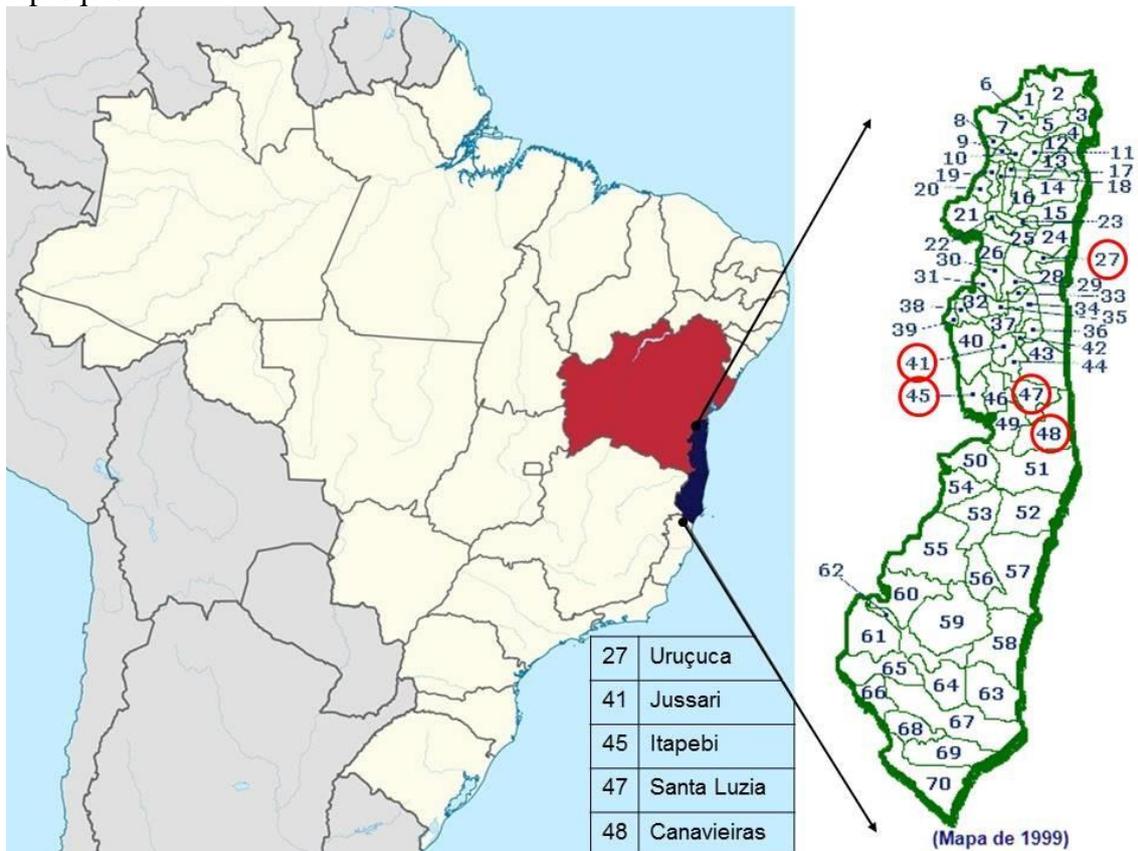
2.1 Área de estudo

A mesorregião sul baiano é compreendida entre as latitudes 13°09' e 18°24'S e longitudes 38°46' e 40°41'W, tendo 111.000km² (D'ANGIOLELLA *et al.*, 2005), com pluviosidade de 900mm/ano ao sudoeste podendo chegar a 2.000mm/ano ao nordeste (D'ANGIOLELLA *et al.*, 2005).

O experimento foi conduzido de acordo com as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e devidamente registrado na CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais/UFRB) com número de processo 23007.012156/2017-25, respeitando o bem-estar animal.

As coletas foram realizadas em cinco municípios com grande produção de bubalinos: Uruçuca, Jussari, Itapebi, Canavieiras e Santa Luzia (Figura 1). O município de Uruçuca estende-se por 392km², faz parte do Parque Estadual da Serra do Conduru e possui uma altitude de 85 metros. Jussari possui 356,9 km² com 156 metros de altitude. Itapebi estende-se por 1.005,4km² situada a 56 metros de altitude. Canavieiras com 1327km² situado a 14 metros de altitude e o município de Santa Luzia que se estende por 774,9km² e está situado a 510 metros de altitude (CIDADE-BRASIL, 2017).

Figura 1 Mapa da Mesorregião Sul baiano, destacando os municípios selecionados para a pesquisa.



Fonte: Adaptado de Brasilchannel, 2017.

2.2 Amostras

O número de amostras foi definido com base na fórmula para cálculo amostral apresentada por Triola (1999):

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot (1 - p)}{Z^2 \cdot p \cdot (1 - p) + e^2 \cdot (N - 1)}$$

Sendo:

N – o número da população;

p – a proporção estimada (prevalência);

Z – o grau de confiança;

e – o erro aceitável.

A prevalência utilizada no cálculo de anticorpos IgG anti-*N. caninum* foi 35,9% (GONDIM *et al.*, 2007) e para anticorpos IgG anti-*T. gondii*, foi de 3,85% (GONDIM *et al.*, 1999).

O intervalo de confiança utilizado foi de 95%, e a margem de erro de 5%. O tamanho da amostra foi calculada para 343 animais e foram coletados 363 animais com idades variadas e de forma aleatória.

Antes da coleta de sangue, foi aplicado um inquérito epidemiológico. A coleta de sangue foi realizada por meio de punção venosa (veia coccígea ou jugular) nos búfalos, e as amostras foram acondicionadas em tubos tipo vacutainer sem anticoagulante, armazenado em isopor com gelo onde o material foi refrigerado para facilitar a retirada dos soro e preservação, no laboratório as amostras foram centrifugadas a 675 x G por 10 minutos.

O soro foi armazenado em microtubos eppendorfs devidamente identificados, conservados em uma temperatura de -20°C até sua utilização.

2.3 Sorologia

A imunofluorescência indireta (RIFI) foi o teste diagnóstico utilizado para a identificação de anticorpos IgG anti *N. caninum*. Foram utilizadas lâminas sensibilizadas com taquizoítos da cepa NC-Bahia (GONDIM *et al.*, 2001), soros controles positivos e negativos, e conjugado marcado com FITC (isotiocianato de fluoresceína, SIGMA- BR) os soros diluídos em um ponto de corte de 1:200 (GONDIM *et al.*, 2007). A leitura foi realizada em microscópio de epifluorescência (OLYMPUS, CKX41), as amostras positivas foram tituladas em diluições dobradas até não mais apresentarem reação.

Já a detecção de anticorpos IgG anti *T. gondii* foi realizada com um kit comercial (WAMA Diagnóstica) de hemoaglutinação indireta, seguindo as recomendações do fabricante. Os soros foram diluídos em um ponto de corte de 1:64 (FUJII *et al.*, 2001) e distribuídos em placas de micro titulação em poliestireno com fundo em “V”. Assim como na RIFI, as amostras foram testadas até não mais apresentarem reação e controles positivo e negativo foram utilizados.

2.4 Inquérito Epidemiológico

Foi realizado um inquérito epidemiológico para obtenção de dados de manejo dos animais e das áreas das fazendas. Foram coletadas as seguintes informações sobre os animais: idade, sexo, raça, abortos, frequência do veterinário, presença de mata na fazenda, destino de placenta, se os animais parem nos currais, se são separado em caso de aborto, ocorrência de fetos mumificados, os fetos são enterrados, há livre acesso de outros animais aos búfalos, presença de cão ou gato fêmea gestante, qual a procedência dos cães e gatos da fazenda, existe contado de gatos e cães com Búfalos, o armazenamento de alimento é em local fechado, outros animais tem acesso ao local dos alimentos dos bubalinos. Confira a escrita deste parágrafo

Os dados relativos a fazenda foram: atividade, número total de animais, o método de criação (inseminação ou monta natural), presença de cães, gatos, animais silvestres ou outros animais de produção e possível contato entre eles e os búfalos.

2.5 Análise Estatística

Os dados das análises sorológicas foram analisados estatisticamente pelo percentual simples para verificar a presença do patógeno. A associação entre as variáveis explicativas do inquérito e a ocorrência da soropositividade foi realizada por tabela cruzada (KLAUCK *et al.*, 2016).

Verificou-se também a existência de diferença significativa entre as variáveis utilizando o teste do Qui-quadrado ($\alpha \leq 0,05$) (DA SILVA *et al.*, 2017), mediante software estatístico R Studio – The R Project for Statistical Computing, versão 2.2.1.

3. RESULTADOS

Foram coletados 363 animais com idades variadas e de forma aleatória, desses anticorpos IgG anti-*N. caninum* foram detectados em 52,61% dos animais (191/363). Os títulos variaram de 1:200 a 1:3200 (Tabela 1).

Tabela 1 Títulos de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em amostras de Búfalos pela técnica do RIFI na Mesorregião sul baiano

Titulação	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
Prevalência	19,56% (71/363)	23,97% (87/363)	4,13% (15/363)	4,41% (16/363)	0,55% (2/363)

Anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram detectados em 14,60% (53/363). Os títulos variaram de 1:64 a 1:512, sendo que 5,23% (19/362) dos animais foram reagentes no título de 1:64; 5,23% (19/362) no título de 1:128; 3,58% (13/362) em 1:256; e 0,55% apresentaram título de 1:512 (2/362).

Foram observados 23/363 (6,34%) animais com sorologia positiva para ambas as parasitoses.

Os animais soropositivos para anticorpos IgG anti-*N. caninum* e IgG anti-*T. gondii* foram agrupados de acordo com os municípios de origem na Mesorregião sul baiano. Pode-se observar os animais soropositivos para anticorpos IgG anti-*N. caninum* possuem prevalência semelhante para essa enfermidade. Para anticorpos IgG anti-*T. gondii* pode-se observar que a região de Jussari é a que possui a maior prevalência (21,05%) e Uruçuca a menor prevalência (6,98%).

Análise estatística realizada na população estudada, não encontrou significância entre as variáveis respostas (soropositividade para anticorpos IgG anti-*N. caninum* e soropositivos para IgG anti-*T. gondii*) e as variáveis explicativas (sexo, idade, aborto, frequência de assistência do veterinário, presença de mata na fazenda, destino de placenta, parem nos currais, separado em caso de aborto, fetos mumificados, fetos são enterrados, contato de outros animais aos búfalos, presença de cão ou gato fêmea gestante, qual a procedência dos cães e gatos da fazenda, existe contido de gatos e cães com Búfalos, o armazenamento de alimento é em local fechado, outros animais tem acesso ao local dos alimentos dos bubalinos).

Foi encontrado *Risk Ratio* (probabilidade de ocorrência) para anti-*T. gondii*, no fator de risco frequência de assistência do veterinário (2,24), presença de feto mumificado (1,63) e contato com gatos (2,24). Visto que o *Risk Ratio* encontra-se mais associado a uma possível relevância clínica e a sua força de associação entre a variável resposta e seus fatores de risco.

4. DISCUSSÃO

Uma vez que neosporose e toxoplasmose apresentam grandes prejuízos à pecuária mundial o estudo dessas parasitoses é fundamental para o desenvolvimento regional. Esse estudo verificou a existência de uma alta prevalência de anticorpos IgG anti *Neospora caninum* e de anti-*T. gondii* na área estudada.

Os valores de prevalência referente à presença de anticorpos IgG anti-*N. caninum* encontrados em estudos no Brasil, apresentaram uma grande variação (GONDIM *et al.*, 2007; VIANA *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2001; FUJII *et al.*, 2001; RODRIGUES *et al.*, 2005; GENNARI *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2017; VOGEL *et al.*, 2006). Entretanto, a maioria desses trabalhos está de acordo com o valor de prevalência encontrada na mesorregião sul baiano nesse estudo.

De acordo com Da Silva *et al.* (2017), a transmissão vertical parece ser a responsável pela alta prevalência da doença no rebanho. Isso sugere que na mesorregião sul baiano a transmissão vertical pode ser um dos fatores que favorecem a persistência dessa enfermidade no rebanho.

A prevalência encontrada nesse estudo realizado na mesorregião Sul baiano, Bahia, foi maior do que aquela encontrada por Gondim *et al.*, (2007) na Bahia. Nesse estudo os autores utilizaram a técnica de Imunofluorescência Indireta, testaram 117 búfalos adultos, em quatro propriedades situadas em um raio de 500 km da cidade de São Salvador, Bahia, Brasil. Os valores encontrados por esses autores foi de aproximadamente 35% o que pode indicar uma alta prevalência de anticorpos IgG anti *Neospora caninum* em bubalinos presentes no estado da Bahia.

Além da transmissão vertical, outro fator que se deve considerar é a presença de canídeos domésticos ou selvagens, como fator de risco para *N. caninum*. Da Silva *et al.*

(2017), verificaram que a presença de cães nas fazendas estudadas podem facilitar o desenvolvimento do ciclo completo do *N. caninum* e sua persistência no rebanho. Esse parece ser outro fator importante de risco para a alta prevalência da doença nos rebanhos da região estudada. Entretanto, o estudo estatístico não verificou a existência desse como um fator de risco devido à falta de variabilidade, uma vez que em todas as propriedades estudada haviam cães.

Pessoa *et al.* (2016), relataram que *N. caninum* é um fator que contribui significativamente com as perdas na reprodução e produção, pois pode causar doenças uterinas que afetam negativamente a próxima gestação e conseqüentemente a lactação. Por isso a alta prevalência encontrada nesse estudo merece atenção.

Vários estudos demonstram uma prevalência para anticorpos IgG anti-*T. gondii* no Brasil prevalência variando entre 1,1% a 41,6% em búfalos em diversos estados (GONDIM *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2013; DA SILVA *et al.*, 2014; DA SILVA *et al.*, 2017; FUJII *et al.*, 2001).

Diferente do que encontrado na mesorregião Sul baiano, Gondim *et al.* (1999) encontrou na região do Recôncavo da Bahia uma prevalência de 3,85%. Essa diferença pode ser devido ao fato de que na mesorregião sul baiano existe uma área de mata nativa que são refúgios naturais de animais selvagens que são hospedeiros definitivo e intermediário desse parasito, e podem contribuir para a persistência do parasito na região.

Altas prevalências de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em bubalinos no Brasil, foram encontrados no estado do Pará (DA SILVA *et al.*, 2013), por ELISA e IFAT, respectivamente (DA SILVA *et al.*, 2014), (DA SILVA *et al.*, 2017). Mostrando assim uma alta prevalência quando comparada com os resultados encontrado nessa pesquisa, em regiões de mata essa prevalência pode ser ainda maior, portanto as medidas de prevenção devem ser intensificadas.

Os diferentes valores encontrados de variação nas prevalências podem estar relacionados às diferenças entre regiões estudadas, as populações examinadas e os testes laboratoriais empregados nos diagnósticos. Além disso, segundo Gondim *et al.*, (2017), o teste ELISA pode apresentar reação cruzada com outros coccídeos.

A presença de felídeos é fator de risco relativo para a presença de *T. gondii*, deve provavelmente segundo Da Silva *et al.* (2017), a contaminação das pastagens é a rota de transmissão mais comum para essa infecção em búfalos.

As propriedades sem assistência periódica de um médico veterinário apresentaram um risco relativo duas vezes maior de ter contaminação em relação com as que têm visita frequente, pois a presença do veterinário favorece as boas práticas de manejo.

Em relação a significância, não foi encontrado diferença significativa entre as variáveis respostas (soropositividade para anticorpos IgG anti-*N. caninum* e soropositivos para IgG anti-*T. gondii*) e as variáveis explicativas.

5. CONCLUSÃO

Observa-se uma elevada prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e de anti-*T. gondii* nas amostras de soro dos búfalos na Bahia, Brasil, quando comparados com outros estudos nessa região, não foi observada correlação estatisticamente significante entre os fatores de risco estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMERÍA S. *Neospora caninum* and Wildlife. **ISRN Parasitology**. 2013; Vol. 2013, Article ID 947347: 23p.
- BRASILCHANNEL. 2017 [cited 2017 fev 05] Available from: [http://www.brasilchannel.com.br/municipios/index.asp?nome= Bahia®iao=Sul](http://www.brasilchannel.com.br/municipios/index.asp?nome=Bahia®iao=Sul).
- CIDADE-BRASIL. 2017 [cited 2017 out 23] Available from: <http://www.cidade-brasil.com.br/>.
- DA SILVA JB, DA FONSECA AH, ANDRADE SJT, SILVA AGM, OLIVEIRA CMC, BARBOSA JD. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 2013; 33(5): 581-585.
- DA SILVA JB, DOS SANTOS PN, DE SANTANA-CASTRO GN, DA FONSECA AH, BARBOSA JD. Prevalence survey of selected bovine pathogens in water buffaloes in the north region of Brazil. **Journal of Parasitology Research** 2014; v. 2014, Article ID 603484, p.4.
- DA SILVA JB, NICOLINO RR, FAGUNDES GM, BOMJARDIM HA, REIS ASB, LIMA DHS, OLIVEIRA CMC, BARBOSA JD, FONSECA AH. Serological survey of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle (*Bos indicus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in ten provinces of Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases** 2017; 52(2017): 30–35.
- D'ANGIOLELLA G, VASCONCELLOS VLD, ROSA JWC. Estimativa e espacialização do balanço hídrico na mesorregião sul da Bahia. **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto** 2005; 12: 83-90
- DUBEY JP, LINDSAY DS, LAPPIN MR. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America: small animal practice** 2009; 39(6): 1009-34.
- DUBEY JP, ROMAND S, HILALI M, KWOK OCH, THULLIEZ P. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. **International Journal for Parasitology** 1998; 28(3): 527-29.
- FUJII TU, KASAI N, VASCONCELLOS SA, RICHTZENHAIN LJ, CORTEZ A, SOUZA SLP, BARUSELLI PS, NISHI SM, FERREIRA F, GENNARI SM. Anticorpos Anti- *Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em Búfalas da Região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. São Paulo, **Arquivo Instituto Biológico** 2001; 68(2): 5-9.
- GENNARI SM, Rodrigues AAR, Viana RB, Cardoso EC. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Northern region of Brazil. **Veterinary parasitology** 2005; 134 (1): 169-71.
- GONDIM LFP, BARBOSA JR HV, RIBEIRO FILHO CHA, SAEKI H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. **Veterinary Parasitology** 1999; 82: 273-6.
- GONDIM LFP, MINEO JR, SCHARES G. Importance of serological cross-reactivity among *Toxoplasma gondii*, *Hammondia spp.*, *Neospora spp.*, *Sarcocystis spp.* And *Besnoitia besnoiti*. **Parasitology** 2017; 144: 851–868
- GONDIM LFP, PINHEIRO AM, ALMEIDA MAO. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** 2007; 8: 92-6.
- GONDIM LFP, PINHEIRO AM, SANTOS POM, JESUS EEV, RIBEIRO MB, FERNANDES HS, ALMEIDA MAO, FREIRE SM, MEYER R, McALLISTER MM. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology** 2001; 101: 1-7.
- HILL DE, DUBEY JP. *Toxoplasma gondii* as a Parasite in Food: Analysis and Control. **Microbiology spectrum** 2016; 4(4).
- HUONG LTT, LJUNGSTRÖM BL, UGGLA A, BJÖRKMAN C. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. **Veterinary Parasitology** 1998; 75(1): 53-7.

- KLAUCK V, MACHADO G, PAZINATO R, RADAVELLI WM, SANTOS DS, BERWAGUER JC, BRAUNIG P, VOGEL FF. Relation between *Neospora caninum* and abortion in dairy cows: Risk factors and pathogenesis of disease. **Microbial Pathogenesis** 2016; 92(2016) 46-49.
- LEAL PDSA, COELHO CD. Toxoplasmose em cães: uma breve revisão. Rio de Janeiro, **Coccidia** 2014; 2: 2-39.
- MCALLISTER MM. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice** 2016; 32(2), 443-463.
- MORRISSETTE NS, AJIOKA JW. The early years of *Toxoplasma* research: What's past is prologue. **International Journal of Parasitology** 2009; 39(8): 865-9. doi:10.1016/j.ijpara.2009.02.010.
- NAVIDPOUR S, HOGHOOGHI-RAD N. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in buffaloes in Khoozestan province, Iran. **Veterinary Parasitology** 1998; 77(2-3): 191-4.
- PESSOA GA, MARTINI AP, TRENTIN JM, DALCIN VC, LEONARDI CEP, VOGEL FSF, SÁ FILHO MF, RUBIN MIB, SILVA CAM. Impact of spontaneous *Neospora caninum* infection on pregnancy loss and subsequent pregnancy in grazing lactating dairy cows. **Theriogenology** 2016; 85(3), 519-527.
- RODRIGUES AA, GENNARI SM, PAULA VS, AGUIAR DM, FUJII TU, STARKE-BUZETI W, MACHADO RZ, DUBEY JP. Serological responses to *Neospora caninum* in experimentally and naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Veterinary parasitology** 2005; 129(1): 21-4.
- SHAAPAN RM. The common zoonotic protozoal diseases causing abortion. **J Parasit Dis** 2016; (Oct-Dec 2016) 40(4): 1116-1129.
- SILVA SP, MOTA RA, FARIA EB, FERNANDES EFTS, NETO OL, ALBUQUERQUE PP, DIAS HL. Anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 2010; 30(5): 443-6.
- SOUZA SLP, NASCIMENTO AA, FURUTA PI, BASSO LMS, SILVEIRA DM, COSTA AJ. Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no estado de São Paulo, Brasil. **Semina** 2001; 22: 39-48.
- TRIOLA MF. **Introdução à Estatística**. ed. 7. Rio de Janeiro: LTC. 1999.
- VIANA RB, DEL FAVA C, MOURA ACB, CARDOSO EC, ARAÚJO CV, MONTEIRO BM, PITUCO EM, VASCONCELLOS SA. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, *Brucella sp.* e *Leptospira spp.* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na Amazônia. São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico** 2009; 76(3): 453-7.
- VOGEL FSF, ARENHART S, BAUERMANN FV. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural** 2006; 36(6): 1948-51.
- ZOU F, YU X, YANG Y, HU S, CHANG H, YANG J, DUAN G. Seroprevalence and Risk Factors of *Toxoplasma gondii* Infection in Buffaloes, Sheep and Goats in Yunnan Province, Southwestern China. **Iran J Parasitol** 2015; 10, (4):648-651.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A baixa prevalência de anti-*T. gondii*, quando comparado, com a prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, pode ser devido a menor quantidade de felinos silvestres e domésticos nessa região quando comparado com os canídeos, tendo uma probabilidade menor de adquirirem anticorpos para *T. gondii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMERÍA, S. 2013. *Neospora caninum* and Wildlife. **ISRN Parasitology**. Vol. 2013, Article ID 947347: 23p.
- ALVARADO-ESQUIVEL, C.; ROMERO-SALAS, D.; GARCÍA-VÁZQUEZ, Z.; CRUZ-ROMERO, A.; PENICHE-CARDEÑA, Á.; IBARRA-PRIEGO, N.; Aguilar-Domínguez, M.; Pérez-de-León, A.A.; DUBEY, J. P. 2014. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Veracruz State, Mexico and its association with climatic factors. **BMC Veterinary Research**, 10(1): 1.
- ANDREOTTI R; LOCATELLI-DITTRICH R.; SOCCOL T.V.; PAIVA F. 2003. **Diagnóstico e Controle da Neosporose em Bovinos**. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande, MS, 51p. (ISSN 1517-3747).
- ANTONELLO, A. M.; CAMILLO, G.; WEBER, A.; BRAUNIG, P.; SANGIONI, L. A.; VOGEL, F. S. F. 2015. Dinâmica sorológica de anticorpos contra *Neospora caninum* durante a gestação de vacas naturalmente infectadas. **Ciência Animal Brasileira**, 16(4), 553-559.
- BARLING, K. S.; LUNT, D.K.; SNOWDEN, K.F.; THOMPSON, J.A. 2001. Association of serologic status for *Neospora caninum* and postweaning feed efficiency in beef steers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 219(9): 1259-62.
- BARTELS, C.J.M.; VAN SCHAIK, G.; VELDHUISEN, J.P.; VAN DEN BORNE, B.H.P.; WOUDA, W.; DIJKSTRA, T. 2006. Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum*-associated abortion epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, 77: 186-98.
- BARTLEY, P. M.; KATZER, F.; ROCCHI, M. S.; MALEY, S. W.; BENAVIDES, J.; NATH, M.; PANG, Y.; CANTÓN, G.; THOMSON, J.; CHIANINI, INNES, E. A. 2013. Development of maternal and foetal immune responses in cattle following experimental challenge with *Neospora caninum* at day 210 of gestation. **Veterinary Research**, 44(91): 1-14.
- BASTIANETTO, E. 2009. Criação de búfalos no Brasil: situação e perspectiva. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 6: 98-103.
- BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fuer Parasitenkunde**, 70: 271-4.
- BOWMAN, D.D. 2010. **Georgis – Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro, Elsevier, 9 ed.: 488.
- BRASILCHANNEL. 2017. <http://www.brasilchannel.com.br/municipios/index.asp?nome=Bahia®iao=Sul>. Acesso em 05/02/2017.
- CADORE, G. C.; VOGEL, F. S.; SANGIONI, L. A.; PENA, H. F.; GENNARI, S. M. 2010. IgM e IgG como marcadores da infecção transplacentária por *Neospora caninum* em fetos bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30(7), 551-553.
- CENCI-GOGA, B.T.; ROSSITTO, P.V.; SECHI, P.; MCCRINDLE, C.M.; CULLOR, J.S. 2011. Toxoplasma in animals, food, and humans: an old parasite of new concern. **Foodborne Pathogens and Disease**, 8(7): 751-62.
- CIDADE-BRASIL. 2017 <http://www.cidade-brasil.com.br/>. Acesso em 23/10/2017.
- DA SILVA, J.B.; DA FONSECA, A.H.; ANDRADE, S.J.T.; SILVA, A.G.M.; OLIVEIRA, C.M.C.; BARBOSA, J.D. 2013. Prevalência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(5):581-585.
- DA SILVA, J.B.; DOS SANTOS, P.N.; DE SANTANA-CASTRO, G.N.; DA FONSECA, A.H.; BARBOSA, J.D. 2014. Prevalence survey of selected bovine pathogens in water buffaloes in the north region of Brazil. **Journal of Parasitology Research**. v. 2014, Article ID 603484, p.4.
- DA SILVA, J.B.; NICOLINO, R.R.; FAGUNDES, G.M.; BOMJARDIM, H.A.; REIS, A.S.B.; LIMA, D.H.S.; OLIVEIRA, C.M.C.; BARBOSA, J.D.; FONSECA A.H. 2017. Serological survey of

Neospora caninum and *Toxoplasma gondii* in cattle (*Bos indicus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in ten provinces of Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases** 52 (2017) 30–35.

DAMÉ, M.C.F.; RIET-CORREA, F.; SCHILD A.L. 2013. Doenças hereditárias e defeitos congênitos diagnosticados em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 33 (7):831-839.

D'ANGIOLELLA, G.; VASCONCELLOS, V.L.D.; ROSA, J.W.C. 2005. Estimativa e espacialização do balanço hídrico na mesorregião sul da Bahia. **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, 12: 83-90.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D.S.; LAPPIN, M.R. 2009. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America: small animal practice**, 39(6): 1009-34.

DUBEY, J.P. 2008. The history of *Toxoplasma gondii* —The First 100 Years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 55: 467–75.

DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A.; TOPPER, M.J.; UGGLA, A. 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 192: 1269-85.

DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; FERREIRA, L.R.; CHOUDHARY, S.; VERMA, S.K.; KWOK O.C.; FETTERER, R.; BUTLER, E.; CARSTENSEN, M. 2014. Isolation of viable *Neospora caninum* from brains of wild gray wolves (*Canis lupus*). **Veterinary parasitology**, 201:150–3.

DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; RAJENDRAN, C.; MISKA, K.; FERREIRA, L.R.; MARTINS, J.; KWOK, O.C.; CHOUDHARY, S. 2011. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary parasitology**, 181(2): 382-7.

DUBEY, J.P.; JONES, J.L. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, 38: 1257–78.

DUBEY, J.P.; LAGO, E.G.; GENNARI, S.M.; SU, C.; JONES, J.L. 2012. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, 139(11): 1375-424.

DUBEY, J.P.; LAPPIN, M.R. 2015. Toxoplasmose e Neosporidiose. p. 842–864. In: GREENE, C.E. eds. **Doenças Infeciosas Em Cães e Gatos**/Craig E. Greene; tradução Idília Vanzellotti, Patricia Lydie Vouex – 4ed. Guanabara Koogan – Rio de Janeiro –Brasil.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary parasitology**, 67(1): 1-59.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C. A.1998 b. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cyst. **Clinical Microbiology Reviews**, 11(2): 267–299 .

DUBEY, J.P.; ROMAND, S.; HILALI, M.; KWOK, O.C.H.; THULLIEZ, P. 1998a. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. **International Journal for Parasitology**, 28(3): 527-29.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, 140(1-2): 1-34.

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

FAO. 2016. **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/E>. Acesso em 06 de junho de 2016.

FAYER, R.; FRENKEL, J.K. 1979. Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidia: *Besnoitia*, *Hammondia*, *Cystoisospora*, *Sarcocystis* and *Toxoplasma*. **The Journal of Parasitology**, 65: 756-62.

FUJII, T.U.; KASAI, N.; VASCONCELLOS, S.A.; RICHTZENHAIN, L.J.; CORTEZ, A.; SOUZA, S.L.P.; BARUSELLI, P.S.; NISHI, S.M.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M. 2001. Anticorpos Anti-

Neospora caninum e contra outros agentes de abortamentos em Búfalos da Região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, 68(2): 5-9.

GENNARI, S.M.; Rodrigues, A.A.R.; Viana, R.B.; Cardoso, E.C. 2005. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Northern region of Brazil. **Veterinary parasitology**, 134 (1): 169-71.

GONDIM, L.F.P. BARBOSA JR., H.V.; RIBEIRO FILHO, C.H.A.; SAEKI, H. 1999. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 82: 273-6.

GONDIM, L.F.P.; MINEO, J. R.; SCHARES, G. 2017. Importance of serological cross-reactivity among *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* spp., *Neospora* spp., *Sarcocystis* spp. And *Besnoitia besnoiti*. **Parasitology** 144: 851–868

GONDIM, L.F.P.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O. 2007. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. 8: 92-6.

GONDIM, L.F.P.; PINHEIRO, A.M.; SANTOS, P.O.M.; JESUS, E.E.V.; RIBEIRO, M.B.; FERNANDES, H.S.; ALMEIDA, M.A.O.; FREIRE, S.M.; MEYER, R.; McALLISTER, M.M. 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology** 101: 1-7.

GONDIM, L.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, 34: 159-61.

GUIDO, S.; KATZER, F.; NANJIANI, I.; MILNE, E.; INNES, E. A. 2016. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis. **Trends in parasitology**, 32(2): 131-43.

HEIN, H.E.; MACHADO, G.; MIRANDA, I.C.; COSTA, E.F.; PELLEGRINI, D.C.; DRIEMEIER, D.; CORBELLINI, L.G. 2012. Neosporose bovina: avaliação da transmissão vertical e fração atribuível de aborto em uma população de bovinos no estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 32(5): 396-400.

HILL, D.E.; DUBEY, J.P. 2016. *Toxoplasma gondii* as a Parasite in Food: Analysis and Control. **Microbiology spectrum**, 4(4).

HUONG, L.T.T.; LJUNGSTRÖM, B.L.; UGGLA, A.; BJÖRKMAN, C. 1998. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. **Veterinary Parasitology**, 75(1): 53-7.

IBGE - Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2015-2016. Acessado em 20/10/2017.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. **Produção Pecuária municipal**, Rio de Janeiro, ISSN 0101-4234, 42: 1-39.

KING, J.S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D.J.; AL-QASSAB, S.E.; ELLIS, J.T.; WINDSOR, P.A. 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, 40(8): 945-50.

KLAUCK, V.; MACHADO, G.; PAZINATO, R.; RADAVELLI, W.M.; SANTOS, D.S.; BERWAGUER, J.C.; BRAUNIG, P.; VOGEL, F.F. 2016. Relation between *Neospora caninum* and abortion in dairy cows: Risk factors and pathogenesis of disease. **Microbial Pathogenesis** 92 (2016) 46-49.

LEAL, P.D.S.A.; COELHO, C.D. 2014. Toxoplasmose em cães: uma breve revisão. **Coccidia**, Rio de Janeiro, 2: 2-39.

McALLISTER, M.M. 2016. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, 32(2), 443-463.

MORRISSETTE, N.S.; AJIOKA, J.W. 2009. The early years of *Toxoplasma* research: What's past is prologue. **International Journal of Parasitology**, 39(8): 865–9. doi:10.1016/j.ijpara.2009.02.010.

- NAVIDPOUR, S.; HOGHOOGHI-RAD, N. 1998. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in buffaloes in Khoozestan province, Iran. **Veterinary Parasitology**, 77(2-3): 191–4.
- OLIVEIRA, J.P.F.; RANGEL A.H.N.; BARRETO, M.L.J.; ARAÚJO, V.M.; LIMA JÚNIOR, D.M.; NOVAES L.P.; AURELIANO, I.P.L. 2013. Temperamento de búfalas em sala de ordenha sobre índices produtivos e adaptabilidade ao ambiente: uma revisão. **J Anim Behav Biometeorol** v.1, n.1, p.21-30.
- OLIVEIRA, M.C.S. 2006. **Doenças infecciosas em sistemas de produção de leite**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 34p.
- OZKAN, A.T.; CELEBI, B.; BABUR, C.; LUCIO-FORSTER, A.; BOWMAN, D.D.; LINDSAY, D.S. 2008. Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cats of the Ankara region of Turkey Using the Sabin Feldman dye test and an indirect fluorescent antibody test. **Journal of Parasitology** 94: 817–820.
- PESSOA, G. A.; MARTINI, A. P.; TRENTIN, J. M.; DALCIN, V. C.; LEONARDI, C. E. P.; VOGEL, F. S. F.; SÁ FILHO, M. F.; RUBIN, M.I.B.; SILVA, C. A. M. 2016. Impact of spontaneous *Neospora caninum* infection on pregnancy loss and subsequent pregnancy in grazing lactating dairy cows. **Theriogenology**, 85(3), 519-527.
- PETERSEN, E.; VESCO, G.; VILLARI, S.; BUFFOLANO, W. 2010. What do we know about risk factors for infection in humans with *Toxoplasma gondii* and how can we prevent infections? **Zoonoses Public Health** 57: 8–17.
- PRADO, A. A. F.; ALMEIDA, G. F.; GONTIJO, L. S.; TORRES, M. L. M. 2011. Toxoplasmose: o que o profissional da saúde deve saber. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, 7(12), 1-30.
- PRUVOT, M., KUTZ, S.; BARKEMA, H.; DE BUCK, J.; ORSEL, K. 2014. Occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and *Neospora caninum* in Alberta cow-calf operations. **Prev. Vet. Med.** 117, 95–102.
- REICHEL, M.P.; ALEJANDRA AYANEGUI-ALCÉRRECA, M.; GONDIM, L.F.; ELLIS, J.T. 2013. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - the billion dólar question. **International Journal for Parasitology**. 43: 133–42.
- RODRIGUES, A.A.; GENNARI, S.M.; PAULA, V.S.; AGUIAR, D.M.; FUJII, T.U.; STARKE-BUZETI, W.; MACHADO, R.Z.; DUBEY, J.P. 2005. Serological responses to *Neospora caninum* in experimentally and naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Veterinary parasitology**, 129(1): 21-4.
- SANTOS, D. S.; ANDRADE, M. P.; VARASCHIN, M. S.; GUIMARÃES, A. M.; HIRSCH, C. 2011. *Neospora caninum* in bovine fetuses of Minas Gerais, Brazil: genetic characteristics of rDNA. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, 20 (4): 281-288.
- SETHI, R.K. 2010. Buffalo improvement program in India. **Revista Veterinária**, 21(1): 76-82.
- SHAAPAN, R.M. 2016. The common zoonotic protozoal diseases causing abortion. **J Parasit Dis** (Oct-Dec 2016) 40(4):1116–1129.
- SILVA, A.C. 2004. Diagnóstico da Neosporose Bovina. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, 13(1): 29-33.
- SILVA, R. C.; MACHADO G. P. 2016. Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management. **Veterinary Medicine: Research and Reports**. 7: 59–70.
- SILVA, S.P.; MOTA, R.A.; FARIA, E.B.; FERNANDES, E.F.T.S.; NETO, O.L.; ALBUQUERQUE, P.P.; DIAS, H.L. 2010. Anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30(5): 443-6.
- SOUZA, S.L.P.; NASCIMENTO, A.A.; FURUTA, P.I.; BASSO, L.M.S.; SILVEIRA, D.M.; COSTA, A.J. 2001. Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no estado de São Paulo, Brasil. **Semina**, 22: 39-48.
- SOUZA, W.D.; DUARTE, É.D.S.M.; LEMGRUBER, L.; ATTIAS, M.; VOMMARO, R.C. 2010. Organização estrutural do taquizóito de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**, 20(1): 131-43.

- TANAKA, T.; HAMADA, T.; INOUE, N.; NAGASAWA, H.; FUJISAKI, K.; SUZUKI, N.; MIKAMI, T. 2000. The role of CD4+ or CD8+ T cells in the protective immune response of BALB/c mice to *Neospora caninum* infection. **Vet Parasitol.** 90: 183-191.
- TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. 2000. *Toxoplasma gondii* from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, 30(12-13): 1217-58.
- TRIOLA, M.F. 1999 **Introdução à Estatística**. ed. 7. Rio de Janeiro: LTC.
- VIANA, R.B.; DEL FAVA, C.; MOURA, A.C.B.; CARDOSO, E.C.; ARAÚJO, C.V.; MONTEIRO, B.M.; PITUCO, E.M.; VASCONCELLOS, S.A. 2009. Ocorrência de anticorpos *anti-Neospora caninum*, *Brucella sp.* e *Leptospira spp.* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na Amazônia. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo. 76(3): 453-7.
- VOGEL, F.S.F.; ARENHART, S.; BAUERMANN, F.V. 2006. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, 36(6): 1948-51.
- WILSON, D.J.; ORSEL, K.; WADDINGTON, J.; RAJEEV, M.; SWEENEY, A.R.; JOSEPH, T.; GRIGG, M.E.; RAVERTY, S.A. 2016 *Neospora caninum* is the leading cause of bovine fetal loss in British Columbia, Canada. **Veterinary parasitology**, 218, 46-51.
- ZOU, F.; YU, X.; YANG, Y.; HU, S.; CHANG, H.; YANG, J.; DUAN G. 2015. Seroprevalence and Risk Factors of *Toxoplasma gondii* Infection in Buffaloes, Sheep and Goats in Yunnan Province, Southwestern China. **Iran J Parasitol**: 10, (4):648-651.

APÊNDICE

FORMULÁRIO DE ITENS EXIGIDOS EM CADA ETAPA DO TRABALHO

3.3 Trabalho de Conclusão

PARTE EXTERNA	
CAPA	Obrigatório
PARTE INTERNA – ELEMENTOS PRÉ-TEXTUAIS	
FOLHA DE ROSTO	Obrigatório
FICHA CATALOGRÁFICA	Opcional
FOLHA DA COMISSÃO EXAMINADORA	Obrigatório
DEDICATÓRIA	Opcional
AGRADECIMENTOS	
EPIGRAFE	
TÍTULO/RESUMO/PALAVRAS CHAVE	Obrigatório
TITLE/ABSTRACT/KEYWORDS	
LISTA DE ABREVIATURAS, FIGURAS, QUADROS E/OU TABELAS	Opcional
SUMÁRIO	Obrigatório
PARTE INTERNA – ELEMENTOS TEXTUAIS	
FORMA CONVENCIONAL	
INTRODUÇÃO (com Hipótese e Objetivos)	Obrigatório
REVISÃO DE LITERATURA	
MATERIAL E METODOS	
RESULTADOS E DISCUSSÃO	
CONCLUSÃO	
FORMA DE ARTIGOS/CAPÍTULOS	
INTRODUÇÃO (com Hipótese e Objetivos)	Obrigatório
REVISÃO DE LITERATURA	
CAPÍTULO 1 – Artigo 1	Opcional
CAPÍTULO 2 – Artigo 2 (quando for o caso)	
CONSIDERAÇÕES FINAIS	Obrigatório
PARTE INTERNA – ELEMENTOS PÓS-TEXTUAIS	
REFERÊNCIAS	Obrigatório
APÊNDICES	
ITENS EXIGIDOS	
IMPACTO CIENTIFICO	
NORMA DO PERIÓDICO (quando na forma de Artigos/Capítulos)	
INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES	Opcional

IMPACTO CIENTÍFICO

Ao final desse projeto de dissertação será gerado 1 artigo a ser publicado na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Qualis B1).

NORMAS DO PERIÓDICO

POLÍTICA EDITORIAL

Submissão de trabalhos:

O artigo a ser submetido deve passar por revisão do inglês, pelos revisores credenciados pela RBPV (http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes_traducoes.php). Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão. Caso um dos coautores seja estrangeiro nativo da língua inglesa, este deverá revisar o inglês do trabalho e enviar um ofício à RBPV.

Taxa de publicação:

Após o aceite do artigo, será cobrada as seguintes taxas de publicação:

R\$ 250,00 (associados do CBPV em dia com as anuidades);

R\$ 500,00 (não-associados do CBPV).

Dados bancários para depósito:

Nome: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária/ Revista

Banco do Brasil (001)

Agência: 0269-0

Conta Corrente: 28848-9

Para autores estrangeiros:

SWIFT BRASBRRJRPO

IBAN 001026900000288489

Endereço: Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Zona Rural. CEP: 14884-900. Jaboticabal – SP, Brasil.

Processo de avaliação pelos pares

O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator ad-hoc. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 2 revisores anônimos,

sendo um estrangeiro, selecionados pelo editor-chefe. Em caso de pareceres contrários, o artigo será enviado a um terceiro revisor.

O relator deverá preencher o formulário de avaliação da RBPV, disponível no sistema on-line de submissão (<http://mc04.manuscriptcentral.com/rbpv-scielo>). Tendo recebido a avaliação de pelo menos 2 dos revisores selecionados, o(s) autor(es) receberá (ão) os formulários de avaliação e possíveis correções feitas diretamente no texto. O avaliador poderá corrigir novamente o artigo, se necessário. Após o aceite pelos revisores ad-hocs, porém antes da resposta aos autores, o artigo passará pela análise final de um dos Editores Científicos Assistentes. Lembrando que, o Editor Científico Assistente possui autonomia para sugerir correções e/ou rejeitar a publicação do artigo, mesmo com a aprovação dos relatores.

Após diagramação e editoração, os editores científicos assistentes e a editora-chefe da revista, fazem as correções finais.

Transferência de direitos autorais:

Ao ser submetido, o artigo deve vir acompanhado de um ofício, em que o autor se responsabiliza por todo o processo de tramitação e originalidade do trabalho.

ÉTICA

Experimentos que utilizam animais deverão ser conduzidos obedecendo às normas aprovadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (<http://www.cobea.org.br>), devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos em Comissão de Ética e Bem-Estar Animal.

APRESENTAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Na elaboração do texto serão observadas as seguintes normas:

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês, de forma concisa, com linguagem impessoal e com os sinais de chamadas de rodapé em números arábicos, lançados ao pé da página em que estiver o respectivo número e em ordem crescente. Os trabalhos deverão ser apresentados em fonte "Times New Roman", tamanho 12, com margem superior e inferior de 2,5 cm, esquerda e

direita com 3 cm e espaçamento entre linhas de 1,5 cm com as páginas numeradas. Para a categoria Artigo Completo, o trabalho não deverá exceder 17 páginas, quando da diagramação final. Para a categoria Comunicação Breve, o trabalho não deverá exceder 6 páginas, quando da diagramação final. As tabelas e ilustrações deverão ser apresentadas separadas do texto e anexadas ao final do trabalho, sem legendas. As respectivas legendas deverão vir no texto logo após as referências bibliográficas. Os trabalhos submetidos deverão ser revisados por um dos revisores de língua inglesa credenciados pela RBPV, de escolha e sob responsabilidade dos autores. Os Artigos Completos devem ser organizados obedecendo à seguinte sequência: Título Original, Título Traduzido, Autor(es), Filiação Institucional, Abstract (Keywords), Resumo (Palavras-chave), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (ou combinação destes três últimos), Agradecimentos (facultativo) e Referências Bibliográficas. As Comunicação Breve obedecem à sequência acima sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido. Para essa categoria, o artigo submetido só será aceito desde que possua alto grau de ineditismo e originalidade, trazendo resultados novos de importância evidente, atribuindo ao Editor-chefe a continuidade da submissão ou não.

Características dos elementos de um trabalho científico

Título Original

O título “cheio” e o subtítulo (se houver) não devem exceder 18 palavras. Não deverá aparecer nenhuma abreviatura, e os nomes de espécies ou palavras em latim deverão vir em itálico. Evitar (por exemplo) títulos que iniciem com: Estudos preliminares; Observações sobre. Não usar o nome do autor e data de citação em nomes científicos.

Autor(es)/Filiação

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação). A Filiação Institucional deve informar os nomes próprios de todas as instituições e não suas traduções: Laboratório, Departamento, Faculdade ou Escola, Instituto, Universidade, Cidade, Estado e País, exatamente nessa ordem. No rodapé, deve constar as informações do

autor para correspondência: Endereço completo, telefone e e-mail atualizado, nessa ordem.

Referências bibliográficas

As referências bibliográficas só serão admitidas desde que sejam de fácil consulta aos leitores. Não serão aceitas referências de trabalhos publicados em anais de congressos e as teses devem estar disponíveis para consulta em sites oficiais, por exemplo, Banco de Teses da Capes: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. Todas as citações no texto devem ser cuidadosamente checadas em relação aos nomes dos autores e datas, exatamente como aparecem nas referências.

“Abstract” e Resumo

Devem conter no máximo 200 palavras, em um só parágrafo sem deslocamento. Não devem conter citações bibliográficas. Siglas e abreviações de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso, por exemplo, Indirect Fluorescence Assay (IFA). Devem ser informativos, apresentando o objetivo do trabalho, metodologia sucinta, os resultados mais relevantes e a conclusão. O abstract redigido em língua inglesa e o resumo em língua portuguesa, ambos seguidos por keywords e palavras-chave, respectivamente.

Keywords e Palavras-chave

As palavras-chave devem expressar com precisão o conteúdo do trabalho. São limitadas em no máximo 6 (seis).

Introdução

Explicação clara e objetiva do estudo, da qual devem constar a relevância e objetivos do trabalho, restringindo as citações ao necessário.

Material e Métodos

Descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser apenas citados e referenciados. Métodos estatísticos devem ser explicados ao final dessa seção.

Resultados

O conteúdo deve ser informativo e não interpretativo: sempre que necessário devem ser acompanhados de tabelas, figuras ou outras ilustrações autoexplicativas.

Discussão

Deve ser limitada aos resultados obtidos no trabalho e o conteúdo deve ser interpretativo. Poderá ser apresentada como um elemento do texto ou juntamente aos resultados e conclusão. Enfatizar a importância de novos achados e novas hipóteses identificadas claramente com os resultados.

Tabelas

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final; e devem ser enviadas em formato editável (desejável excel). A legenda (título) é precedida da palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismos arábicos, devendo ser descritivas, concisas e inseridas acima das mesmas. As tabelas devem estar limitadas a um número mínimo necessário. Devem ser digitadas em espaço duplo em arquivos separados.

Figuras

As figuras, tais como: desenho, fotografia, prancha, gráfico, fluxograma e esquema, devem ser enviadas em formato .tif, .gif ou .jpg, com no mínimo de 300 dpi de resolução e numeradas consecutivamente. As legendas devem ser precedidas da palavra Figura, seguida da numeração em algarismo arábico e inseridas abaixo das mesmas. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções, em folha separada em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário. Fotografias digitais deverão ser enviadas em arquivos separados, como foram obtidas. Se a escala for dada às figuras, utilizar a escala BAR em todas as ilustrações ao invés de numérica, que pode ser alterada com a redução das figuras.

Conclusões

As conclusões podem estar inseridas na discussão ou em resultados e discussão, conforme a escolha dos autores. Nesse caso, esse item não será necessário.

Agradecimentos

Quando necessário, limitados ao indispensável.

Referências bibliográficas

A lista de referências deverá ser apresentada em ordem alfabética e, posteriormente, ordenadas em ordem cronológica, se necessário. Mais de uma referência do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano deve ser identificada pelas letras "a", "b", "c", etc, inseridas após o ano de publicação. Títulos de periódicos devem ser abreviados conforme Index Medicus - <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

Livros

Levine JD. Veterinary protozoology. Ames: ISU Press; 1985.

Capítulo de livro

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667- 680.

Artigo de periódico

Paim F, Souza AP, Bellato V, Sartor AA. Selective control of Rhipicephalus (Boophilus) microplus in fipronil-treated cattle raised on natural pastures in Lages, State of Santa Catarina, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 2011; 20(1): 13-16.

Tese e Dissertação

Araujo MM. Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

Documento eletrônico

Centers for Disease Control and Prevention. Epi Info [online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

Obs. Nas referências, apresentar os nomes dos seis primeiros autores; para referências com mais de seis autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão *et al.*

Citações

As citações devem seguir o sistema autor-data:

Um autor: nome do autor e ano de publicação

Levine (1985) ou (LEVINE, 1985)

Dois autores: os nomes dos autores e ano da publicação

Paim e Souza (2011) ou (PAIM & SOUZA, 2011)

Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de "et al." e o ano de publicação

Araújo et al. (2002) ou (ARAÚJO et al., 2002)

Prova Gráfica

O trabalho diagramado em formato pdf., será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitas para publicação, devem ser realizadas nesse estágio, com permissão do editor-chefe. Portanto, o trabalho deve ser cuidadosamente corrigido antes de responder ao editor, pois inclusões de correções subsequentes (indicação de novo autor, mudança de parágrafos inteiros ou tabelas) não podem ser garantidas.