UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

PERFIL SORO-EPIDEMIOLÓGICO DE Toxoplasma gondii EM CAPRINOS DO CEARÁ E AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO COM A ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

MAXIMIANA MESQUITA DE SOUSA

SOBRAL - CE

MARÇO - 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

PERFIL SORO-EPIDEMIOLÓGICO DE Toxoplasma gondii EM CAPRINOS DO CEARÁ E AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO COM A ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

MAXIMIANA MESQUITA DE SOUSA

SOBRAL - CE

MARÇO – 2014

MAXIMIANA MESQUITA DE SOUSA

PERFIL SORO-EPIDEMIOLÓGICO DE Toxoplasma gondii EM CAPRINOS DO CEARÁ E AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO COM A ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ DA SILVA VIEIRA



MAXIMIANA MESQUITA DE SOUSA

TÍTULO: PERFIL SORO-EPIDEMIOLÓGICO DE *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS DO CEARÁ E AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO COM A ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

Dissertação	defendida	e	aprovada	em:	12	103	1.2014	pela	comissão
Examinadora	a:			1					

Professor Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro UVA/Embrapa Caprinos e Ovinos

Dr. Antonio Cezar Rocha Cavalcante Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos

Dr. Rodrigo Rodrigues Cambraia de Miranda Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

Dr. Luiz da Silva Vieira – Orientador Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos PRESIDENTE

 $\mathbf{SOBRAL} - \mathbf{CE}$

 $MAR \\ \zeta O - 2014$

Aos meus amados **Pais**, **irmão e Esposo**, presentes de Deus em minha vida, que investiram no meu sonho acreditaram que eu seria capaz de torná-lo realidade. A vocês, todo o meu amor e gratidão!

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fortaleza, presente em minha vida todos os dias, me fortaleceu, me sustentou e me trouxe até aqui com seu amor. Sem Ele, com certeza, nada poderia fazer.

Aos meus pais, Alvaro e Mariana, por tudo o que fizeram e fazem por mim. Pelos conselhos, pela minha formação e ensinamentos, apoio, amor, dedicação e companheirismo incondicional. Sou imensamente grata a Deus por ter me dado pais tão maravilhosos... Amo muito vocês:

Ao meu esposo, Mardonio Aquino, que me incentivou mesmo antes de fazer parte da história da minha vida, inclusive antes da seleção, companheiro em todos os momentos nessa etapa da minha vida, pelos maravilhosos momentos que compartilhamos durante esses dois anos, pelo seu amor, cuidado e compreensão. Te Amo!

Ao meu Orientador, professor Dr. Luiz da Silva Vieira, pela oportunidade, paciência e disposição em ensinar-me; Contigo aprendi muitas coisas além da paixão pela Parasitologia, agradeço pelo amigo generoso que encontrei todas as vezes que precisei desabafar. Você faz parte deste capítulo da minha vida, serei eternamente grata!

Ao meu co-orientador, Dr. Antonio Cezar Rocha Cavalcante, pela amizade e segurança com que primeiramente me conduziu pelos caminhos da toxoplasmose. Minha admiração, carinho e amizade ficam para sempre.

Ao professor Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro, pela paciência e cuidado, pelo tempo a mim dedicado quando eu ia na sua sala pedir "socorro". Muito obrigada!

A minha amiga Roberta Lomonte, obrigada por tudo, sua ajuda se estendeu desde a padronização a conclusão desse trabalho, enfim, minha gratidão é indescritível.

Ao amigo, Vanderlan Souza, amizade que tem sobrevivido ao tempo e as fases, graduação, mestrado se estendendo ao doutorado. Obrigada pela ajuda na realização deste trabalho, pela companhia, paciência em me escutar...

Aos laboratoristas: Dona Helena, obrigada pelo apoio, conselhos, força, carinho, ensinamentos; Seu Felipe, obrigada pelo incentivo, pela companhia no Laboratório; Osmarilda, Nóbrega, Jamille, João Ricardo, gente muito obrigada!

Aos colegas estagiários, Edgar, Renato, Laninha, Dalva, Ana Lídia, Janice, Igor Magalhães, Edilson, Junior, Eliz, Dalilian, obrigada pelos momentos de descontração e pelas boas conversas que tornavam os dias mais leves e felizes.

Aos idealizadores e participantes do projeto Estudo Zoossanitário, aos técnicos e colegas pela realização das coletas, aos pesquisadores, Lauana Borges Santiago, Dr. Francisco Selmo Fernandes, a Daniele Farias, Samilly Alves, Milena, obrigada!

Ao professor Dr. Ricardo Wagner da Universidade Federal de Minas Gerais pelo antígeno para realização dos testes para Toxoplasmose.

Aos colegas de mestrado, Awdrea, Luanna, Eliz, Tatiana Farias, Cleverton, Clébio, obrigada pelo companheirismo no grupo de estudos.

Aos professores do programa de mestrado UVA/Embrapa Caprinos e Ovinos, obrigada pelos ensinamentos.

A Embrapa Caprinos e Ovinos por conceder às instalações para a realização dos testes sorológicos e ao CNPq pelos recursos da pesquisa e pela bolsa concedida.

A todos vocês muito obrigada!

"Sonhe com aquilo que você quiser. Seja o que você quer ser, porque você possui apenas uma vida e nela só se tem uma chance de fazer aquilo que quer. Tenha felicidade bastante para fazê-la doce. Dificuldades para fazê-la forte. Tristeza para fazê-la humana. E esperança suficiente para fazê-la feliz. As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas. Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus caminhos. A felicidade aparece para aqueles que choram. Para aqueles que se machucam. Para aqueles que buscam e tentam sempre. E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passam por suas vidas".

Clarice Lispector

SUMÁRIO

	PÁGINA X
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XIV
RESUMO GERAL	15
GENERAL ABSTRACT	16
CONSIDERAÇÕES GERAIS	17
CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO	19
1. INTRODUÇÃO	20
2. Toxoplasma gondii - TOXOPLASMOSE	22
2.1.1ASPECTOS BIOLÓGICOS	23
2.1.2 TOXOPLASMOSE EM CAPRINOS	24
2.1.3 DIAGNÓSTICO	26
2.1.4 CONTROLE	27
3. ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA	28
3.1.1 HISTÓRICO	28
3.1.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS	28
3.1.3 OCORRÊNCIA DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA	29
3.1.4 DIAGNÓSTICO	30
3.1.5 PREVENÇÃO E CONTROLE	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPITULO II – OCORRÊNCIA DE TOXOPLASMOSE E CAE	44
RESUMO	45
ABSTRACT	46
1. INTRODUÇÃO	47
2.MATERIAL E MÉTODOS	48
2.1.1 AMOSTRAGEM	49
2.1.2 QUESTIONÁRIO	50
2.1.3 COLETA DE SANGUE	51
2.1.4 TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA	51
2.1.5 IDGA E WESTERN BLOT	54

3. ANÁLISE DOS DADOS	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1.1 ELISA PARA DETERMINAR AVIDEZ IgG	61
4.1.2 CARACTERISTICAS FÍSICAS DAS UNIDADE PRODUTORAS	61
4.1.3 VALORES DE OCORRÊNCIA DA TOXOPLASMOSE	63
4.1.4 ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA	66
5. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ANEXO I	74

cap	quência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (N=833) em soros de rinos naturalmente infectados, oriundos de municípios tencentes à quatro Mesorregiões do Ceará, Brasil, 2013
sist nat	equência de amostras positivas por messorregião, sexo, categoria, ema de criação e finalidade de criação em soros de caprinos uralmente infectados com <i>T. gondii</i> testados pelo ELISA, oriundos diferentes unidades produtoras do Estado Ceará
nat me	quência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soros de caprinos uralmente infectados, oriundos de unidades produtoras de diferentes sorregiões do Estado Ceará, com presença e ausência de gatos mésticos
nat me	quência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soros de caprinos uralmente infectados, oriundos de unidades produtoras de diferentes sorregiões do Estado Ceará, com presença e ausência de gatos vagens
	orrência da Toxoplasmose caprina (N=738) em comparação com iáveis de acordo com o questionário63

LISTA DE FIGURAS

	XIII
Figura 1. CICLO BIOLÓGICO E FORMAS DE TRANSMISSÃO DO	
Toxoplasma gondii	24
Figura 2. CAPRINO INFECTADO PELO VÍRUS DA CAE	29
Figura 3. MAPA MESORREGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA	48
Figura 4. MAPA MESORREGIÕES DO CEARÁ.	50

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

XIV

% Percentagem

CAE Caprine Arthritis Encephalitis
CAEV Caprine Arthritis-Encephalitis Virus
ELISA Enzime-Linked Immunosorbent Assay

EMATERCE Empresa de Assistência Tecnica e Extensão Rural do Ceará

HAI Hemaglutinação Indireta

H2SO4 Ácido Sulfúrico H2O2 Água Oxigenada

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatistica

IC Intervalo de confiança

IDGA Imunodifusão em gel de Agar

IgGImunoglobulinas GIgMImunoglobulinas M

IPECE Instituto de Pesquisa e Estatégia Econômica do Ceará

IR Indice de reatividade

kDa Kilodalton

LVPR Lentiviroses de pequenos ruminantes

OR Odss Relativa

PBS Solução tampão fosfato salino

PBST Solução de fosfato tamponada Tween 20

PCR Reação em cadeia de polimerase

RIFI Reação de Imunofluorescência Indireta

SAS Statical Analysis System

SDA Superintendência do Desenvolvimento Agrário SDS PAGE Dodecil-sulfato de sódio de poliacrilamida

SPRD Sem Padrão Racial Definido

SST Solução salina contendo Twenn 20 a 0,05%

T. gondiiToxoplasma gondiiWBWestern Blot χ^2 Qui-Quadrado μg Micrograma (s) μL Microlitro (s)

RESUMO GERAL

SOUSA, Maximiana Mesquita de, MsC. Universidade Estadual Vale do Acaraú/Embrapa Caprinos e Ovinos, Março de 2014. Perfil soro-epidemiológico de *Toxoplasma gondii* em caprinos do Ceará e avaliação da associação com a Artrite-Encefalite Caprina. Orientador: Dr. Luiz da Silva Vieira. Co-orientador: Dr. Antonio Cezar Rocha Cavalcante.

As enfermidades de um modo geral são consideradas fatores limitantes para as criações de pequenos ruminantes, uma vez que as mesmas promovem perdas consideráveis. A toxoplasmose tem como agente etiológico o Toxoplasma gondii, protozoário pertencente ao Filo Apicomplexa que acomete todos os animais homeotérmicos, inclusive o homem. Nos caprinos, a principal repercussão clínica e econômica é o aborto. Algumas enfermidades podem favorecer a instalação da toxoplasmose nos rebanhos, dentre as quais a Artrite Encefalite Caprina (CAE), doença infecciosa, multissistêmica, causada por um retrovírus do gênero Lentivírus, que acomete caprinos de todos os sexos, idades e raças. Objetivou-se com este estudo determinar o perfil soroepidemiológico de Toxoplasma gondii em caprinos do Ceará e avaliar a associação com a Artrite Encefalite caprina. Foram avaliados soro de 833 animais. A prova sorológica utilizada para detecção de anticorpos anti-T. gondii foi o ELISA. Para a detecção de anticorpos anti-CAEV utilizou-se a técnica de Imunodifusão em Gel de Agarose -IDGA e o "Western Blot". Os resultados obtidos mostram ocorrência de 63,9% (532/833), para toxoplasmose. Os animais que apresentaram-se positivos foram submetidos ao teste de Avidez a fim de determinar a fase de infecção (crônica e/ou aguda). Os resultados do teste de avidez evidenciaram que 75,0% (398/532) apresentavam infecção crônica, enquanto 25,0% (133/532) apresentavam quadro de infecção aguda. Os resultados obtidos pelo IDGA para a CAE mostraram que 3,7% (31/833) dos animais examinados encontravam-se positivos para esta enfermidade. As propriedades avaliadas que apresentaram pelo menos um animal reagente tiveram todas as amostras submetidas ao "Western Blot" para confirmar os resultados. Ao todo foram testadas 193 amostras das quais, 41,5% (80/193) tinham anticorpos contra o vírus. Estes resultados demonstram que as ocorrências da toxoplasmose e da CAE foram alta nos rebanhos estudados, indicando a necessidade crescente da adoção de medidas de manejo a fim de controlar a disseminação destas doenças.

Palavras-chave: caprinos, enfermidades, toxoplasmose, CAE

GENERAL ABSTRACT

SOUSA, Maximiana Mesquita de, MsC. Universidade Estadual Vale do Acaraú/Embrapa Caprinos e Ovinos, Março de 2014. Sero-epidemiological profile of Toxoplasma gondii in goats in Ceará and evaluation of its association with caprine arthritis-encephalitis. Advisor: Dr. Luiz da Silva Vieira. Co-advisor: Dr. Antonio Cezar Rocha Cavalcante.

The diseases are generally considered limiting factors for the creation of small ruminants, since they promote considerable losses. The etiologic agent of Toxoplasmosis, the protozoan *Toxoplasma gondii*, belongs to the Phylum Apicomplexa that affects all warm-blooded animals, including human. In goats, the main clinical sign which has the most important economic impact is abortion. Some diseases may favor the installation of toxoplasmosis in herds. Among them is the caprine arthritis encephalitis (CAE), an infectious and multisystemic disease, caused by a retrovirus of the genus *Lentivirus*, which affects goats of all genders, ages and races. The objective of this study was to determine the sero-epidemiology of Toxoplasma gondii in goats in Ceará and a possible association with the caprine arthritis encephalitis. Sera from 833 animals were evaluated. The serological test used to detect anti-T.gondii was ELISA. For the detection of anti-CAEV antibodies it was used the Agar Gel immunodiffusion -AGID and Western Blotting. The results show the occurrence of 63.9% (532/833) of toxoplasmosis. Animals that were positive were subjected to Avidity testing to determine the stage of infection (chronic and/or acute). The avidity test results showed that 75.0 % (398/532) of the animals had chronic infection, whereas 25.0% (133/532) had acute infection. The results obtained by AGID showed that 3.7% (31/833) of examined animals were found to be positive for CAE. The evaluated properties that had at least one reactant animals had all samples submitted to the Western Blot to confirm the results. As a whole, from 193 samples, 41.5% (80/193) had antibodies against the virus. These results show that the occurrence of toxoplasmosis and CAE were high in the evaluated herds, indicating the growing need to adopt management measures to control the spread of these diseases.

Keywords: goats, disease, toxoplasmosis, CAE

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A pecuária no Brasil representa para alguns estados e municípios a base da economia. A caprinocultura é uma das atividades que vem se caracterizando por sua importância sócio econômica, desempenhando papel crucial no desenvolvimento das regiões onde existe a criação de pequenos ruminantes. Além de ser considerada uma boa alternativa de trabalho, renda e fonte de proteína animal.

O rebanho caprino brasileiro é estimado em 8,6 milhões de cabeças distribuídas em sua grande maioria no Nordeste, que detém 90,7% do efetivo (IBGE, 2012). Esta atividade na região ainda é desenvolvida de forma empírica, predominando o sistema de criação extensivo. O efetivo caprino do Ceará é de 1.024.255 cabeças, justificando a importância da atividade para o Estado.

A maioria das propriedades adota um sistema de criação mista, sendo os rebanhos formados basicamente por caprinos, ovinos e bovinos. A finalidade da criação está voltada principalmente para produção de, carne, leite e pele.

Algumas enfermidades podem constituir um fator limitante na criação de caprinos, dentre elas destacam-se as doenças parasitárias e infecciosas responsaveis por perdas produtivas e reprodutivas nos rebanhos. Dentre as doenças parasitárias destacase a toxoplasmose, protozoonose de distribuição mundial, importante para a saúde pública, e para animais de produção. Acomete animais de todas as idades, inclusive o homem, podendo ser mais grave em indivíduos imunocomprometidos. Tem como agente etiológico o *Toxoplasma gondii*, protozoário intracelular obrigatório, de ampla distribuição geografica, encontrado parasitando uma grande diversidade de hospedeiros (mamíferos e aves).

Nos animais de produção e no homem, a infecção ocorre geralmente de forma assintomática. Os sintomas clínicos quando presentes podem ser facilmente confundidos com outras enfermidades, fato que dificulta o tratamento e aumenta a importância do diagnóstico laboratorial, em especial o sorológico para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma*.

Estudos apontam algumas doenças capazes de favorecer a instalação da toxoplasmose nos rebanhos bem como o aparecimento dos sinais clínicos da mesma.

Nesse contexto, a Artrite Encefalite Caprina, doença multissistêmica de distribuição mundial, que afeta caprinos de todas as idades, raça e sexo pode estar relacionada.

Caracterizada por promover prejuízos econômicos decorrentes da diminuição da produção de leite, perda de peso, dificuldade de locomoção causada pela artrite, descarte de animais adultos e até mesmo a morte de animais jovens.

Diante da expressividade do rebanho, potencial produtivo das criações e impacto provocado pelas enfermidades, o presente estudo teve como objetivo geral determinar o perfil soro-epidemiológico de *Toxoplasma gondii* em caprinos do Ceará e avaliar a associação com a Artrite-Encefalite Caprina.

A prova sorológica utilizada para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* foi o ELISA. Paralelamente ao ELISA convencional foi realizado o teste de Avidez de anticorpos nos animais soro reagentes para toxoplasmose, com objetivo de determinar a fase da infecção se crônica ou aguda. Para a detecção de anticorpos anti-CAEV, utilizou-se a técnica de Imunodifusão em Gel de Agarose - IDGA e o "Western Blot".

CAPITULO I REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

Por muitos anos a caprinocultura representou apenas uma atividade de subsistência entre os agricultores familiares (POMPONET, 2009). Atualmente o Nordeste detém o maior efetivo caprino do Brasil, tornando esta atividade de grande importancia para a região, tanto sob o aspecto econômico quanto social.

A maioria das criações ainda é explorada em instalações rústicas, o manejo sanitário é deficiente e as tecnologias disponíveis são pouco utilizadas, dificultando a prevenção e controle de doenças, principalmente as de origem infecciosa e parasitária (ALENCAR et al., 2010). Nas últimas décadas têm ocorrido algumas modificações intensificadas por programas governamentais voltados para o investimento em infraestrutura, abrindo perspectivas de consolidação da atividade.

Os caprinos são acometidos por enfermidades que comprometem o seu desempenho produtivo, promovendo impacto econômico negativo à atividade, principalmente onde as criações são constituídas por animais especializados como os leiteiros. As doenças virais e parasitárias estão entre as enfermidades capazes de causar, retardo no crescimento, diminuição da produção de leite, perda de peso e em alguns casos morte dos animais infectados, bem como a possibilidade da predisposição a infecções secundárias (ANDRADE JUNIOR, 2007; VIEIRA; CAVALCANTE; XIMENES, 1997).

Dentre as doenças parasitárias destaca-se a toxoplasmose, que nos caprinos, tem sido estudada em todo o mundo. As perdas decorrentes dessa protozoose são traduzidas por abortos, mal formação fetal e natimorto..Além disso tem sido considerada um problema de saúde pública, tendo sua capacidade de expressão favorecida pelo estado imunológico do hospedeiro.

A CAE é uma doença viral, multissistêmica, capaz de causar sérios prejuízos econômicos às criações de caprinos. Os rebanhos afetados apresentam redução da produção de leite, influenciando no descarte de animais em idade reprodutiva, e baixo aproveitamento do potencial genético (PIRES, 2009).

O presente estudo foi conduzido em rebanhos caprinos leiteiros e de corte de quatro Mesorregiões do Ceará, tendo em vista o potencial produtivo, a importância econômica e social da criação nestas regiões.

Dado aos riscos da ocorrência de sorologia positiva ao *Toxoplasma gondii* para saúde publica e a possibilidade de co-infecção com o vírus da Artrite Encefalite Caprina esse estudo teve como objetivo determinar o perfil soro-epidemiológico de *Toxoplasma gondii* em caprinos do Ceará e avaliar a associação com a Artrite-Encefalite Caprina.

22

2. Toxoplasma gondii e TOXOPLASMOSE

O primeiro relato do Toxoplasma gondii ocorreu em 1908. Nicolle e Manceaux

realizando pesquisas para Leishmania no Instituto Pasteur, encontraram o protozoário

em uma amostra de tecido de um roedor (Ctenodactylus gundi). A princípio,

acreditavam que o parasita era um piroplasma, depois Leishmania, em seguida,

perceberam que haviam descoberto um novo organismo, nomeando-o T. gondii, com

base na morfologia (toxo = arco, plasma = forma) e no hospedeiro, onde inicialmente

foi diagnosticado.

Simultaneamente no Brasil, Splendore descobriu o mesmo parasito em um

coelho (DUBEY, 2008).

Toxoplasma gondii é um parasita coccídeo intracelular obrigatório, seu ciclo de

vida é heteróxeno facultativo, seus hospedeiros definitivos são os membros da família

Felidae e os intermediários todos os animais de sangue quente dentre eles caprinos,

ovinos e humanos, (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Segundo Levine et al. (1980), o parasito possui a seguinte posição Taxonômica:

FILO: Apicomplexa

CLASSE: Sporozoea

SUBCLASSE: Coccidia

ORDEM: Eucoccidiida

FAMÍLIA: Sarcocystidae

SUBFAMÍLIA: Toxoplasmatinae

GÊNERO: Toxoplasma

ESPÉCIE: Toxoplasma gondii

2.1.1 Aspectos biológicos

O ciclo biológico do *T. gondii* é heteróxeno e facultativo, nos hospedeiros definitivos ocorre a reprodução sexuada enquanto nos intermediários a reprodução assexuada (DUBEY, 2009). O protozoário possui como principal característica morfológica, três formas distintas e infectantes: taquizoítos, bradizoítos (forma encistada) e esporozoitos (oocistos), (Figura 1).

A infecção nos hospedeiros definitivos pode ocorrer pela ingestão de bradizoítos contidos em carnes cruas e taquizoítos presentes no leite. Estudos revelam a capacidade de eliminação da forma infectante pelos gatos no meio ambiente, de modo que ao ingerirem bradizoítos, estima-se que todos eliminem oocistos. Quando a infecção ocorre pela ingestão de taquizoítos ou oocistos, somente 30% podem eliminá-los (DUBEY et al., 1998).

A transmissão nos hospedeiros intermediários ocorre através da via horizontal, pela ingestão de oocistos esporulados contidos em água ou alimentos, ingestão de cistos teciduais (bradizoítos) em carne crua ou mal cozida, ou verticalmente pela transmissão transplacentária (TENTER et al., 2000).

Os oocistos são eliminados apenas pelos hospedeiros definitivos. A ingestão de oocistos esporulados contidos em água ou alimentos, pelos hospedeiros intermediários, promove a liberação dos esporozoítos no intestino dos animais infectados, estes se diferenciam em taquizoítos, disseminando-se rapidamente pelo sangue e linfa, processo de intensa e rápida multiplicação caracterizando a fase de parasitemia ou quadro agudo da infecção quando pode ser observada a sintomatologia que em geral aparece entre 5-15 dias após a infecção (DUBEY et al., 1998).

Após esse período, o sistema imune atua sobre o protozoário, o mesmo se refugia dentro do tecido multiplicando-se lentamente formando cistos contendo bradizoítos, caracterizando a fase crônica da doença (DUBEY et al., 1998). Na infecção com bradizoítos estes se diferenciam em taquizoítos e novamente em bradizoítos encistando-se no tecido nervoso, músculo cardíaco e esquelético bem como em tecidos viscerais (DUBEY, 1994). Podendo permanecer intactos por toda a vida do animal sem promover nenhuma resposta inflamatória.

A infecção transplacentária ocorre nos casos de primoinfecção durante a prenhez (DUBEY, 1994). Outros mecanismos de transmissão podem ainda ocorrer embora com menor freqüência, dentre eles destacam-se os acidentes laboratoriais,

transplante de órgãos e ingestão de leite cru (HILL e DUBEY, 2002). Estudos realizados em caprinos experimentalmente infectados, possibilitou isolar o *T. gondii* em amostras de sêmen e de tecido do sistema reprodutivo sugerindo a possibilidade de transmissão venérea deste coccídeo para a espécie (SANTANA et al., 2010).

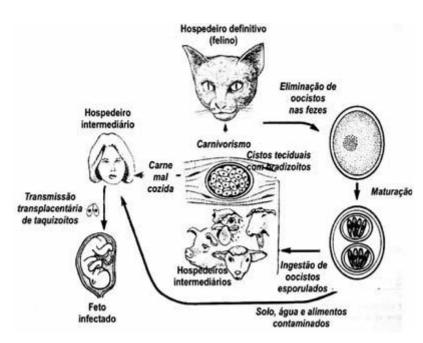


Figura 1: Ciclo biológico e formas de transmissão do *Toxoplasma gondii* Adaptado de Dubey J. P. Fonte: http://www.universovisual.com.br/

2.1.2 Toxoplasmose em caprinos

O primeiro relato da toxoplasmose em caprinos foi obtido, Feldman e Miller (1956). Esse autores por meio de ensaios sororlógicos verificaram prevalência de 43% de anticorpos anti-*T. gondii* em dois grupos de caprinos na área central de Nova York, EUA.

Após a realização desse estudo a doença tem sido identificada como uma das maiores causas de problemas reprodutivos em ovinos e caprinos na Grã-Bretanha, Noruega, Austrália, Nova Zelândia, EUA, assim como em diversos outros países (BLEWETT e WATSON 1984, DUBEY e BEATTIE 1988, SKJERVE et al., 1998, BORDE; LOWAR; ADESIYUN, 2006).

A principal repercussão clínica e econômica da toxoplasmose caprina é o aborto (CAVALCANTE, 2004). Além disso, a doença é responsável pelo nascimento de crias

fracas, causando perdas econômicas para os criadores (GARCIA, et al., 2012). A soroprevalência no mundo é bastante variável, oscilando de 0% no Paquistão a 77% na França (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

No Brasil, foram encontradas taxas de soroprevalência que variavam de 10,0 a 40,4%, nos rebanhos caprinos de várias regiões (FIGUEIREDO et al., 2001; SILVA et al., 2003; REIS et al., 2007; MODOLO et al., 2008; BRANDÃO et al., 2009). Varaschin et al. (2011), analisando soros de 401 caprinos provenientes de 11 propriedades do Sul de Minas Gerais, encontraram soropositividade de 21,4%.

No Nordeste, onde a caprinocultura assume papel de extrema importância concentrando o maior efetivo caprino, a toxoplasmose encontra-se disseminada, com taxas de soroprevalência que variam de 18,1 a 47,13%.

Santos et al. (2012), com o objetivo de determinar fatores de risco associados com a prevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii*, analisaram através da RIFI soros de 975 caprinos leiteiros da Paraíba, obtiveram soroprevalência de 18,1%.

Pereira et al. (2012) investigando através da RIFI, a participação de *T. gondii* em falhas reprodutivas em pequenos ruminantes de criatórios situados na Zona da Mata e no Agreste de Pernambuco, encontraram 31,7% de soropositividade e em 100% das propriedades estudadas foram encontrados animais positivos.

No município de São Luiz (MA) Soares et al. (2010) objetivando estimar a freqüência de rebanhos soropositivos, analisaram através do ELISA soros de 92 caprinos e encontraram soroprevalência de 36,95% e associação significativa para a finalidade produção de leite.

Cavalcante (2004), avaliando através das técnicas ELISA e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), caprinos das Mesorregiões Inhamuns, Norte, Centro, Sul e Litoral do Ceará encontrou prevalência de 25,1%.

Medeiros (2010), analisando soros de 244 caprinos de oito fazendas da região de Cabugi, Rio Grande do Norte, encontrou prevalência de 47,13% para anticorpos anti-T.gondii.

As diferenças encontradas entre as taxas de ocorrência da toxoplasmose podem estar associadas à técnica sorológica utilizada, a fatores climáticos, os quais podem favorecer ou não a permanência dos oocistos viáveis no meio ambiente e a idade dos animais envolvidos no estudo (CAVALCANTE et al., 2008; CÂMARA et al., 2012).

2.1.3 Diagnóstico

A infecção toxoplásmica na maioria dos casos é assintomática, dificultando o diagnóstico baseado nos sinais clínicos. Nesse sentido, a infecção poderá ser detectada através de técnicas parasitológicas ou sorológicas. O que vai determinar a escolha da técnica é a sensibilidade da mesma, bem como a reprodutibilidade e a facilidade de execução, (KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005).

Os métodos parasitológicos apresentam algumas desvantagens dada a baixa sensibilidade, a necessidade da realização de infecções experimentais em camundongos ou cultura de células, requerendo maior tempo para sua execução, além da necessidade de um observador altamente experiente (ANDRADE, 2012).

Contudo os métodos sorológicos demonstram níveis de anticorpos específicos sendo, portanto os mais preconizados. Nesse sentido, têm sido desenvolvidos e aperfeiçoados métodos simples, rápidos e sensíveis, favorecendo o diagnóstico bem como, estudos epidemiológicos (SU et al., 2010).

A reação de Sabin-Feldman foi o primeiro teste disponível para detectar anticorpos específicos anti-*T. gondii*, considerado simples, de fácil execução e bastante sensível. Porém, à necessidade do uso de parasitos vivos e o risco de contaminação para o laboratorista fez com que o mesmo fosse substituído por outras técnicas descritas a seguir.

Um método indireto e bastante utilizado recomendado pela OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) é o ensaio imunoenzimático ELISA, (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) onde é possível a ligação entre anticorpo e antígeno específico, podendo ser direcionado para identificação dos níveis de IgG e IgM, permitindo ainda distinguir entre infecção crônica e aguda, no ELISA de Avidez. (CAMARGO et al., 1991; DUBEY, 2009). Esse teste tem sido amplamente utilizado em inquéritos sorológicos, dentre as principais vantagens, destaca-se a possibilidade de avaliar um número considerável de amostras, ser de fácil interpretação, sensível, especifico e de alta reprodutibilidade.

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), também é considerada bastante sensível e segura para o diagnóstico da toxoplasmose, como as demais técnicas de imunodiagnóstico têm como principio a ligação antígeno/anticorpo. Para sua execução é necessário a utilização de taquizoítos preservados em lâminas de microscopia,

adicionados de um antianticorpo fluorescente, pode ser usada tanto na fase aguda (pesquisa IgM) como na fase crônica (pesquisa IgG), a leitura é realizada em microscópio eletrônico e requer do observador experiência na visualização e identificação (COSTA et al., 2007).

A Hemaglutinação direta (HA) e Hemaglutinação Indireta (HAI), também são usualmente empregadas em levantamentos epidemiológicos. A HAI tem sido citada por alguns autores como método de diagnóstico altamente sensível e de fácil execução. O ensaio baseia-se em reação antígeno/anticorpo especifico contra *T. gondii* e hemácias sensibilizadas com antígeno solúvel do parasito aglutinando-se, revelando dessa forma os anticorpos da classe IgG presentes ou não no soro teste (PEDRASSANI; SILVEIRA; SILVA, 2012).

Atualmente esses testes têm sido associados ao diagnóstico molecular. Dentre as técnicas mais utilizadas está à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), capaz de identificar o DNA do agente parasitário em amostras de tecidos e secreções de animais infectados. No entanto, uma das limitações da técnica é o custo elevado (CARNEIRO, 2013; SU et al., 2010).

2.1.4 Controle

Falhas reprodutivas comprometem o sucesso das criações de caprinos. A participação da toxoplasmose na redução dos índices reprodutivos assume importância econômica indesejável. A fim de minimizar os efeitos deletérios da enfermidade entre os rebanhos e consequentemente para a saúde pública, algumas medidas de manejo devem ser adotadas nas unidades produtoras.

Recomenda-se, portanto, evitar pastejo em áreas possivelmente contaminadas com oocistos esporulados, bem como a ingestão de água e a exposição das rações a fezes dos felídeos. Controlar a população de gatos nas áreas comuns aos animais, observar a ocorrência de abortos, incinerar restos placentários e fetos abortados.

3. Artrite Encefalite Caprina

3.1.1 Histórico

O reconhecimento internacional da CAE como uma enfermidade causada por vírus ocorreu em 1980, após a identificação e isolamento do agente, a partir do cultivo de membrana sinovial de caprinos adultos com artrite crônica, tendo sido detectadas partículas com característica de retrovírus, sendo designado Vírus da Artrite Encefalite Caprina (NARAYAN et al., 1980; CRAWFORD et al., 1980).

A Artrite Encefalite Caprina é causada por um RNA-vírus, pertence à família Retroviridae e gênero *Lentivírus*, conhecida pela sigla em inglês CAEV (*Caprine Arthritis-Encephalitis Virus*) e a CAE (*Caprine Arthritis-Encephalitis*).

No Brasil, a CAE foi inicialmente identificada sorologicamente pela primeira vez por (MOOJEN et al.,1986) em cabras no Rio Grande do Sul. Posteriormente ao primeiro relato, a CAE foi detectada em vários estados. No Nordeste, a enfermidade foi diagnosticada na Bahia (FITTERMAN, 1988), Ceará (PINHEIRO et al., 1989), Pernambuco (CASTRO; NASCIMENTO; ABREU, 1994; SARAIVA NETO et al., 1995), Piauí (PINHEIRO et al., 1996), Maranhão (ALVES e PINHEIRO, 1997), Paraíba (SOUZA e ALVES, 1999), Sergipe (MELO et al., 2003) e Rio Grande do Norte (SILVA et al., 2005), acarretando grandes perdas na caprinocultura leiteira nacional (PINHEIRO et al., 2004).

3.1.2 Aspectos biológicos

A Artrite Encefalite Caprina (CAE) é uma doença infecciosa, multissistêmica, causada por um retrovírus do gênero *Lentivírus*, que acomete caprinos de todos os sexos, idades e raças. É caracterizada por sua natureza crônica de aspecto debilitante, tendo como principais manifestações clínicas a artrite (figura 2), mamite e/ou pneumonia, em animais adultos, e a leucoencefalomielite, em jovens (LARA et al., 2005).

Muitos animais infectados não apresentam sintomatologia clínica, porém permanecem soropositivos durante toda a sua existência (CUTLIP et al., 1992). Os rebanhos livres geralmente se infectam pelo contato com animais infectados recém-

introduzidos no rebanho que funcionam como reservatório e fonte de infecção do CAEV. A transmissão ocorre por meio de secreções ou excreções ricas em células infectadas do sistema monócito-fagocitário, ou seja, em monócitos do sangue e macrófagos através do colostro, leite e outros fluídos orgânicos (SILVA, 2010).

A principal via de transmissão ocorre das cabras para os filhotes através da ingestão de colostro e leite contaminados (BLACKLAWS et al., 2004), podendo ocorrer também pelo contato direto entre animais por meio da urina, saliva e fezes, assumindo maior importância em rebanhos com densidade elevada de animais (CRUZ, 2009). Pesquisas têm relatado a possibilidade da transmissão do vírus, para os cabritos, durante a gestação, além disto, a recente detecção do vírus da CAE no sêmen de reprodutores, natural e experimentalmente infectados, demonstram a transmissão sexual como potencial forma de infecção, incluindo a inseminação artificial (TRAVASSOS et al., 1999; ANDRIOLI et al., 2002).



Figura 2: Caprino infectado pelo vírus da CAE apresentando a forma clínica articular da enfermidade: artrite da articulação do carpo. Fonte: http://www.farmpoint.com.br

3.1.3 Ocorrência da Artrite Encefalite Caprina (CAE)

Dentre as enfermidades que acometem os rebanhos caprinos, principalmente os rebanhos leiteiros e compromete de forma negativa com importância econômica significativa, a CAE assume papel relevante.

O ambiente e o manejo também possuem papel fundamental na epidemiologia (MOURA SOBRINHO et al., 2008). Grandes concentrações favorecem a transmissão ao passo que a prevalência é menor em rebanhos extensivos (ROBLES et al., 2003;

STRAUB, 2004; SOUZA et al., 2007; BANDEIRA et al., 2009; MARTINEZ et al., 2011; LIMA, 2012).

Estudos sorológicos realizados em países como Estados Unidos e Canadá, onde as explorações são mais tecnificadas, a prevalência variou de 38 a 81% (CRAWFORD; ADAMS, 1981). No Ceará (PINHEIRO, et al.; 2004) analisando o perfil de 130 propriedades relacionando-as com a CAE, encontraram 9,2% de positividade, constatando também que as mais tecnificadas foram as mais afetadas.

Silva et al. (2005) estudaram a prevalência da CAE em 184 amostras de soros caprinos da microrregião de Angicos/RN obtiveram 2,71%, de positividade. Em 95% das propriedades estudadas era adotado o sistema de criação semi-intensivo o que pode ter contribuído para a disseminação da enfermidade.

Madureira (2007) objetivando determinar a prevalência da CAE em oito propriedades produtoras de leite do estado de São Paulo obteve média de prevalência de 34,93% em todas as propriedades. Em relação às raças estudadas, esse percentual foi de 49,66%, concluindo com o estudo que a CAE encontrava-se disseminada nos rebanhos daquele estado independente da origem e da raça dos animais.

Almeida (2009) com o objetivo de isolar e identificar os principais agentes bacterianos em 129 amostras de leite de cabra *in natura* co-relacionando com a presença da CAE, obteve prevalência de 24,0% (31/129) e diferença significativa (p<0,05) para os caprinos ordenhados mecanicamente quando comparados aos ordenhados manualmente e um risco aumentado em 4,7 vezes mais chances de ocorrer a infecção.

Silva et al. (2012) estudaram amostras de soros de 422 caprinos leiteiros a fim de estimar a soroprevalência da CAE no estado de Pernambuco e obtiveram 18,01% de positividade entre os animais estudados.

3.1.4 Diagnóstico

Embora os sinais clínicos da CAE sejam conhecidos e de fácil observação, poucos animais os apresentam ou os desenvolvem, portanto, o diagnóstico sorológico baseado em exames laboratoriais é de extrema importância, (BRITO, 2009).

O diagnóstico da infecção por *Lentivírus* pode ser realizado clinicamente, entretanto, como somente uma proporção pequena dos animais desenvolve sinais clínicos, o diagnóstico preciso só pode ser realizado através da sorologia.

No Brasil, o Plano Nacional de Vigilância e Controle (PNVC) de Lentiviroses de Pequenos Ruminantes (LVPR), integrante do Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2004), indica como teste diagnóstico para LVPR a Imunodifusão em gel de agar (IDGA).

O IDGA é o teste sorológico comumente utilizado como teste de triagem da CAE considerado de fácil execução e reprodutibilidade, baixo custo e boa especificidade (ARRUDA, et al., 2011; PINHEIRO et al., 2011), porém, a possibilidade de apresentar resultados falso-negativos, requer associação com outras técnicas a fim de confirmar os resultados observados.

"Western Blot" ou "Immunobloting" é um teste mais sensível que o IDGA, a técnica apresenta algumas desvantagens, considerada laboriosa e demorada, realizada em etapas, como a separação das proteínas por eletroforese, antecedendo à transferência das mesmas para a membrana de nitrocelulose (PINHEIRO et al. 2011). Em contrapartida reduz as reações inespecíficas e a observação de resultados falsosnegativos, dentre suas aplicações estão a complementariedade do IDGA além de ser utilizado na validação de outras técnicas de diagnóstico da CAE.

O ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA-i), também é outra técnica recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2010), considerada mais sensível do que o IDGA, no entanto apresenta custo elevado, além da necessidade da utilização de antígenos mais purificados (PINHEIRO et al., 2010). Lima et al. (2013) padronizaram a técnica de Elisa-i e compararam ao IDGA comercial, obtiveram 100% de sensibilidade e 98,7% de especificidade corroborando a validade do teste.

Estudos recentes utilizando-se de técnicas moleculares como PCR e nested-PCR tem sido realizados com o objetivo de detectar o vírus da CAE em amostras clínicas (GREGORY et al., 2009; GREGORY et al., 2011). Dentre as vantagens apresentadas estão à alta sensibilidade e especificidade, aliada a capacidade de detecção de proteínas ou ácidos nucléicos em amostras na qual o vírus não permanece viável, contudo, esta técnica deverá ser associada a outras.

3.1.5 Prevenção e controle

Algumas características da CAE expressas como longo período de incubação, evolução lenta e progressiva da doença, torna os animais infectados portadores permanentes do vírus, em conseqüência os transforma em potenciais disseminadores (ARRUDA, et al., 2011), dificultando o controle, aliado sobretudo pela indisponibilidade de vacinas e pela sua ampla distribuição em plantéis de excelência zootécnica e grande valor econômico, (GREGORY et al., 2009).

A prevenção e a redução dos índices de infecção nos rebanhos são baseadas na realização de testes sorológicos periódicos, descarte dos animais positivos, separação das crias logo após o nascimento, administração de colostro e/ou leite pasteurizados (REILLY; BAIRD; PUGH, 2002) e quarentena para animais recém adquiridos antes de incorporá-los ao rebanho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. F. <u>Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura.</u> 2009. 160 f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, 2009.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. Presença da Artrite Encefalite Caprina a vírus (CAEV) no estado do Maranhão, In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA**, 1997, Gramado. **Anais**... Gramado, p.008, 1997.

ALENCAR, S. P. et al. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira,** Goiânia, v. 11, n. 1, p. 131-140, jan./mar. 2010.

ANDRADE JUNIOR, C. <u>Soroprevalência do lentivírus de pequenos ruminantes em rebanhos ovinos e caprinos de Microregiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.</u> 2007. 62 p. Tese (Doutorado em Produção Animal). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2007.

ANDRIOLI, A. et al. Transferência de embriões em cabras naturalmente infectadas pelo lentivírus caprino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n.5, p.215-220, 2002.

ANDRADE, M. M. C. <u>Prevalência da toxoplasmose em ovinos e caracterização molecular de isolados de *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) obtidos de animais de produção no Estado do Rio Grande do Norte. 2012. 123 p. Tese (Doutorado em Ciências) — Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.</u>

ARRUDA, E. T. et al. Avaliação de uma microimunodifusão em gel de ágar para diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes (lvpr) em caprinos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.12, n.3, p. 560-565, jul./set. 2011.

BANDEIRA, D. A. et al. Seroprevalence of caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the Cariri region, Paraiba state, Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 180, n. 3, p. 399-401, Jun. 2009.

BLACKLAWS B.A., et al. Transmission of small ruminant lentiviruses **Veterinary Microbiology**, v. 101, n.3, p. 199-208, 2004.

BLEWETT, D. A.; WATSON, W. A. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. III. Observations on outbreaks of clinical toxoplasmosis in relation to possible mechanisms of transmission. **British Veterinary Journal.** V. 140, p. 54 – 63, 1984.

BORDE, G.; LOWHAR, G.; ADESIYUN, A. A. *Toxoplasma gondii* and Chlamydophila abortus in caprina Abortions in Tobago: a Sero-Epidemiological Study. **Journal of Veterinary Medicine**, v.53,p.188-193, 2006.

BRANDÃO, V. M. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e fatores de risco associados à infecção em caprinos da ilha de São Luiz – MA, **Ciência Animal**, n. 1, p. 1-6, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 103, de 07 de dezembro de 2004. Disponível em: http://www.jusbrasil.com.br/diarios>. Acesso em 09 de janeiro de 2014.

BRITO, R. L. L. <u>Implicações da artrite-encefalite caprina na reprodução</u>, produção e na qualidade do leite de cabras. 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú, Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Sobral, 2009.

CÂMARA, A. C. L. et al. Prevalência dos principais agentes infecciosos envolvidos em abortos em caprinos no Nordeste brasileiro. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p.243-248, 2012.

CAMARGO, M. E. et al. Avidez de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. **Revista Instituto de Medicina Tropical** de São Paulo, v. 33, n. 3, p. 213-218, Maio/Junho, 1991.

CARNEIRO, A. C. A. V. et al. Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii* Revealed Highly Diverse Genotypes for Isolates from Newborns with Congenital Toxoplasmosis in Southeastern Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 901-907, March, 2013.

CASTRO, R. S.; NASCIMENTO, S. A.; ABREU, S. R. O. Evidência sorológica de infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina em caprinos leiteiros do Estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, n. 5, p. 571-572, 1994.

CAVALCANTE, A. C. R. <u>Toxoplasmose caprina no Ceará: Soro-epidemiologia e Caracterização de Cepas de *Toxoplasma gondii.* 2004. 129 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.</u>

CAVALCANTE, A. C. R. et al. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.36-41, 2008.

COSTA, T. L. et al. Diagnóstico Clínico e Laboratorial da Toxoplasmose. Newslab, ed. 85, 2007. Disponivel em: <<u>www.newslab.com.br</u>>. Acesso 20 de janeiro de 2014.

CRAWFORD, T.B. et al. Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. **Science**, v.207, p.997-999, 1980.

CRAWFORD, T. B.; ADAMS, D. S. Caprine Arthritis-Encefhalitis: clinical features and presence of antibody in selected populations. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 178, p. 713-719, 1981.

CRUZ, J.C.M. Monitoramento sorológico e da presença do DNA pró-viral do lentivírus caprino (CAEV) no sangue e sêmen de reprodutores infectados. 2009. 35p. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais. Disponível em: http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/SSLA-83KNSV/1/tese juliano_cezar minardi_dacruz.pdf. Acesso em 19 de janeiro de 2014.

CUTLIP, R.C. et al. Prevalence of antibody to caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.200, n.6, p.802-805, Mar. 1992.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. Toxoplasmosis of animal and man. Boca Raton: CRC Press, 220 p. 1988.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis and Other Coccidial Infections. In: SHERDING, R. G. The cat Diseases and Clinical Managemente, p. 565 – 605. 1994.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998. Disponível em: http://cmr.asm.org/content/11/2/267.full. Acesso em 21 de janeiro de 2014.

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

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in sheep - The last 20 years. **Veterinary Parasitology**, v. 163, p. 1 – 14. Feb. 2009.

FELDMAN, H.; MILLER, I. Serological study of toxoplasmosis prevalence. **American Journal of Hygiene**, v, 64, n. 3, p. 320-335, 1956.

FIGUEIREDO, J. F. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Goats by the Indirect Haemagglutination, Immunofluoresce an Immunoenzymatic Test in the Region of Uberlândia, Brazil. **Memórias do Instituto Osvaldo Cruz**, v.96, p.687-692, 2001.

FITTERMAN, I. R. Constatação de complexo artrite-encefalite em um plantel de caprinos no Estado da Bahia. In: **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 21., 1988, Salvador. **Anais**... Salvador: SBMV, p. 93, 1988.

GARCIA, G. et al. *Toxoplasma gondii* in goats from Curitiba, Paraná, Brazil: risks factors and epidemiology. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p. 42-47, jan/mar. 2012.

GREGORY, L. et al. Detecção do virus da artrite encefalite caprina em amostras de leite de cabras pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e nested-PCR. **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, v. 25, n. 3, 142-146, 2009.

GREGORY, L. et al. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina no sêmen através das técnicas de PCR e nested-PCR. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.4, p.599-603, out./dez., 2011

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 8, p. 634-640, 2002.

KOMPALIC-CRISTO; BRITTO, C; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. v. 41, n. 4, p. 229-35. Agosto 2005

LARA, M. C. C. S. H. et al. Aspectos clinicos da artrite-encefalite dos caprinos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 57, n. 6, p. 736-740, 2005.

LEVINE, N. D. et al. A newly revised classification of Protozoa. **Journal of Protozoology Lawrence.**, v. 27, p. 37-58, 1980.

LIMA, C. C. V. <u>Inquérito soroepidemiológico da artrite-encefalite caprina na Microrregião de Juazeiro – Bahia e comparação de técnicas Imunodiagnósticas.</u> 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2012.

LIMA, C. C. V. et al. Imunodiagnóstico para a artrite-encefalite caprina em rebanhos do semiárido baiano, Brasil. Revista Brasileira Medicina Veterinária., v.35, n.4, p.358-364, dez 2013.

MADUREIRA, K. M. Prevalência da artrite encefalite caprina (CAE) em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo. **Sistema Anhanguera de Revistas Eletrônicas.** v.5, n. 5, p. 87-90.Junho/Agosto, 2007. Disponível em:< www.sare.anhanguera.com.> Acesso em 21 de fevereiro de 2014.

MARTINEZ, P. M. et al. Prevalência sorológica da maedi-visna em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro - Bahia por meio do teste de imunodifusão em gel de ágar. **Ciência Animal Brasileira**., Goiânia, v.1 2, n.2, p. 322-329, abr./jun. 2011

MEDEIROS, A. D. <u>Ocorrência da infecção por Toxoplasma gondii e avaliação da imunização em caprinos do sertão do Cabugi, Rio Grande do Norte.</u> 2010._93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) — Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Natal, RN, 2010.

MELO, C. B. et al. Estudo preliminar sobre a infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos e caprinos de Sergipe. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE BUIATRIA, 5° Salvador. **Anais...** p. 47-48, Salvador: SBB, 2003.

MODOLO, J. R. et al. Avaliação da ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, em soros de caprinos do estado de São Paulo, e associação com variáveis epidemiológicas, problemas reprodutivos e riscos à saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 606-610, 2008.

MOOJEN, V. et al. Evidência de infecção pelo Lentivírus (Maedi/Visna – Artrite encefalite caprina) em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivo da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, v.1, n.14, p.93-98, 1986.

MOURA SOBRINHO, P. A. et al. Prevalência e fatores associados à infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos no estado do Tocantins. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife/PE, v. 11, n. 2, p. 65-72, maio/dezembro, 2008.

NARAYAN, O. et al. Biological characterization of virus causing leukoencephalitis and arthritis in goats. **Journal of General Virology**, v.50, p.69-79, 1980.

NICOLLE, C. & MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de Leishman (ouorganismes voisins) du gondi. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences,** v. 147, p. 763-766, 1908.

OIE – Office International des Epizooties. Toxoplasmosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccine for Terrestrial Animals 2010. Disponível em: http://web.oie.int/eng/normes/MMANUAL/2008/pdf/2.09.10 TOXO.pdf. Acesso: 14 de janeiro de 2014.

PEDRASSANI, D.; SILVEIRA, T. M.; SILVA, R. K. SOROLOGIA PARA *Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS DO CENTRO DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL VIDAL RAMOS, CANOINHAS – SC. **Revista Saúde Meio Ambiente**, v. 1, n. 2, p. 171-181, dez. 2012.

PEREIRA, M. F. et al. Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 140 – 146, Fevereiro, 2012.

PINHEIRO, R. R. et al. Artrite-Encefalite Caprina viral (CAEV). Comunicado Técnico, 19, 5p, 1989.

PINHEIRO, R. R. et al. Presença de Artrite Encefalite Caprina a Vírus (CAEV), em Teresina – Piauí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24°. Goiânia. **Anais**... Goiânia. p. 161, 1996.

PINHEIRO, R. R. et al. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionado à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, v. 14, n. 1, p.29-37, 2004.

PINHEIRO, R. R. et al. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa de controle. **Arquivo Instituto Biologico**.; v.77, p.133-137, Jan. 2010. Disponível em: <www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_1/pinheiro.pdf. Acesso em 20 de janeiro de 2014.

PINHEIRO, R. R. et al. Protocolo de Imunnoblotting para diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina. Comunicado Técnico 122; metodologia científica. ISSN 1676-7675. Setembro, 2011.

PIRES, C. R. Estudo soroepidemiológico de *Brucella abortus*, *Toxoplasma gondii* e Vírus da Artrite Encefalite Caprina em rebanhos caprinos nas unidades produtoras dos Estados do Pará e Maranhão. 2009. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belém, 2009.

POMPONET, A. S. Do autoconsumo ao mercado: Os desafios atuais para a caprinocultura no nordeste semiárido da Bahia. **Revista Desenbahia** n. 10, p. 123 – 144, mar. 2009.

REIS, C. R. et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in caprines from Pitanga City, Paraná State, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 358-363, 2007.

REILLY, L.K.; BAIRD, A.N.; PUGH, D.G. Diseases of the musculoskeletal system, In: PUGH, D.G. **Sheep & Goat Medicine**, 1 ed. Philadelphia: Saunders, p. 239-240, 2002.

ROBLES, C. A. et al. Estudio serológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) en ovinos y de Artritis- Encefalitis en caprinos de Patagonia, ARGENTINA. **Revista de Medicina Veterinaria.**, v. 84, n. 3, p. 96-99, 2003.

SANTANA, L. F. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in the reproductive system of male goats. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. v. 19, n. 3, p. 179-182. 2010.

SANTOS, C. S. A. B. et al. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* seroprevalence in goats in the State of Paraíba, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** de Jaboticabal, v. 21, n. 4, p. 399-404, out.-dez. 2012

SARAIVA NETO, A. O. et al. Estudo soro-epidemiológico da artrite encefalite caprina em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 121-124, 1995.

SILVA, A. V. et al. Toxoplasmose em Ovinos e Caprinos: Estudos soro-epidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, p. 115-119, 2003.

SILVA, J. S. et al. Infecção pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina no Rio Grande do Norte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p. 726-731, 2005.

SILVA, M. V. A. <u>Toxoplasmose</u>, <u>Neosporose e Artrite Encefalite Caprina: estudo sorológico em rebanhos caprinos da mesorregião do Triângulo Mineiro/Alto da Parnaíba (MG) e do município de sobral (CE)</u>. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2010.

SILVA, J. G. et al. Soroprevalência de Lentivírus em caprinos leiteiros. **Medicina Veterinária**, Recife, v.6, n.3, p.9-12, jul-set, 2012.

SKJERVE, E. et al. Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norweigian slaughter lambs. **Preventive Medicine Veterinary**, v. 35, p. 219-227. 1998.

SOARES, J. G.; SILVA, M. I. S.; BRANDÃO, V. M. FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM REBANHOS CAPRINOS DO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MA. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 660 – 668, Setembro. 2010.

SOUZA, G. J. G.; ALVES F. S. F. Inquérito sorológico preliminar sobre a artrite encefalite caprina no Estado da Paraíba. **XIV Congresso Estadual Medicina Veterinária**, p. 221, 1999.

SOUZA T. S. et al. Estudo sorológico da Maedi-Visna pelo método da Imunodifusão em Gel de Ágar em rebanhos ovinos de Juazeiro, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.**, v. 8, n. 4, p. 276-282, 2007.

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

STRAUB, O. C. Maedi-visna virus infection in sheep. History and present knowledge. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases v. 27, n. 1, p. 1-5, 2004.

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

TRAVASSOS, C.E. et al. Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks. **Small Ruminant Research**, v.32, p.101-106, 1999.

VARASCHIN, M. S. et al. 2011. Factors associated to seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in caprine herds in southern Minas Gerais state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n.1, p. 53-58, janeiro 2011.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A. C. R.; XIMENES, L. J. F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do nordeste. Sobral-Ce, Embrapa, a.50,1997.

CAPITULO II

PERFIL SORO-EPIDEMIOLÓGICO DE *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS DO CEARÁ E AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO COM A ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

RESUMO

Objetivou-se com esse estudo avaliar o perfil soro-epidemiológico de Toxoplasma gondii em caprinos do Ceará e avaliar a associação com a Artrite-Encefalite Caprina; os riscos da ocorrência de sorologia positiva ao *Toxoplasma gondii* e possíveis associações de co-infecção com o vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV). Foram utilizados animais de leite e de corte, de ambos os sexos, com idades e raças variadas, de quatro mesorregiões do estado do Ceará; Foram obtidos soros de 833 caprinos de 13 municípios e 43 propriedades. A amostra estratificada foi estabelecida de acordo com a composição aproximada dos rebanhos, 65% das matrizes, 30% de animais jovens e todos os reprodutores adultos, sendo coletado sangue de 20 animais em cada propriedade. Para a detecção de anticorpos anti-T. gondii foi utilizado o ensaio imunoenzimático ELISA e para anti-CAEV foram utilizados os testes de Imunodifusão em gel de agarose (IDGA, positivo ou negativo) e "Western Blot". Em todas as propriedades foi aplicado um questionário, abordando questões como a presença ou ausência de gatos, a fim de estabelecer possível correlação entre hospedeiros definitivos e intermediários e os casos positivos para toxoplasmose. Todos os resultados estatísticos foram discutidos no nível de 5% de significância. As taxas de positividade foram de 63,9% para T. gondii, 3,7% para CAEV pelo IDGA e 9,6% pelo Western. Todas as propriedades apresentaram animais positivos para toxoplasmose. Houve associaçõe entre a ocorrência da toxoplasmose e mesorregiões, categoria, sistemas de criação e finalidade da criação. A presença de gatos não influenciou o aumento das taxas de positividade para toxoplasmose. Não houve associação entre ocorrência de anticorpos anti-CAEV e taxas de positividade para T. gondii. Os resultados permitiram concluir que a infecção por T. gondii encontra-se amplamente difundida nas unidades produtoras de caprinos do estado do Ceará. O risco de transmissão da toxoplasmose deve ser considerado, caracterizando a importância da enfermidade para a saúde pública, uma vez que as propriedades têm entre suas finalidades de criação produção de leite e de carne. A ocorrência da CAE não predispõe os animais à infecção pelo T. gondii.

Palavras chave: artrite encefalite caprina, saúde pública, toxoplasmose

,,

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the sero-epidemiology of Toxoplasma gondii in goats in Ceará and the association with the caprine arthritis-encephalitis, as well as the possible risks of the occurrence of positive serology for *Toxoplasma gondii* to public health and possible associations of coinfection with the caprine arthritis encephalitis virus (CAEV). Milk and meat animals were used of both sexes, ages and varied breeds from four different mesoregions of Ceará. Sera were obtained from 833 goats of 13 municipalities and 43 properties. A stratified sample was determined according to the approximate composition of flocks, 65% of the dams, 30% of young animals and all breeders, being collected blood of 20 animals from each property. For the detection of anti-T. gondii, it was used the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and for anti-CAEV antibodies, both the agarose gel immunodiffusion (AGID positive or negative) and western blot. Besides, in all properties it was applied a questionnaire with questions about the property features, including presence or absence of cats, in order to establish possible correlation between definitive and intermediate hosts and positive cases of toxoplasmosis . All statistical results were discussed at the 5% level of significance. The positivity rates were 63.9% for T. gondii, 3.7% for the CAEV (AGID) and 9.6% according to western blot. All properties showed positive animals to Toxoplasmosis. There were associations between the occurrence of toxoplasmosis and mesorregions, categories, breeding systems and farming purposes. The presence of cats did not influence the increased rates of positivity for toxoplasmosis. Nevertheless, there was no association between the occurrence of anti-CAEV antibodies and positivity rates for T. gondii. The results showed that infection by T. gondii is widely diffused in goat production units in the state of Ceará. The risk of transmission of toxoplasmosis should be considered, taking to account the importance of the disease to public health, since among the purposes of breeding goats in the properties are the production of milk and meat. The occurrence of CAE does not predispose animals to infection by T. gondii.

Keywords: caprine arthritis encephalitis, public health, toxoplasmosis

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura no Nordeste encontra-se amplamente difundida, nesta região concentram-se os maiores rebanhos desta espécie animal do país, consolidando a atividade como uma fonte alternativa de trabalho e renda para as populações rurais, integrando e fortalecendo a agricultura familiar. No entanto, o baixo nível de adoção de tecnologias tem contribuído para redução da produção e rentabilidade da atividade nas diferentes regiões produtoras do Brasil.

As enfermidades em geral, aliadas à falta de informações a respeito da ocorrência e epidemiologia das mesmas, bem como as formas de transmissão, ocasionam perdas econômicas, algumas promovem problemas reprodutivos podendo levar a um sub aproveitamento do potencial desse mercado (STACHISSINI, 2005), constituindo-se em desafios, na busca por alternativas de controle, visando o incremento na produção.

Dentre as doenças capazes de reduzir os índices produtivos nas criações de pequenos ruminantes, destaca-se a toxoplasmose, doença de importância médica e veterinária, causada pelo *Toxoplasma gondii* (CARNEIRO, 2013), caracterizada como infecto-contagiosa, de fácil disseminação nos rebanhos dada a sua capacidade de instalação algumas vezes de forma silenciosa, o que na maioria dos casos a torna de difícil diagnóstico (SILVA et al., 2012).

O caráter cosmopolita e o potencial zoonótico da toxoplasmose têm determinado a importância da realização de estudos, a fim de que sejam estabelecidas medidas de manejo capazes de reduzir os riscos de infecção e a disseminação da mesma entre os rebanhos. Por sua vez a CAE acomete animais de todas as idades, raça e/ou sexo, seu período de incubação ainda não esta bem estabelecido, podendo variar de meses a anos (COSTA et al., 2011).

Diante do exposto, objetivou-se com esse estudo avaliar o perfil soro-epidemiológico de *Toxoplasma gondii* em caprinos do Ceará; riscos da ocorrência de sorologia positiva ao *T. gondii*; possíveis associações de co-infecção com o vírus da artrite-encefalitecaprina (CAEV).

2. MATERIAL E MÉTODOS - Área de Estudo

O estudo foi conduzido em quatro mesorregiões do estado do Ceará (Metropolitana de Fortaleza, Noroeste Cearense, Norte Cearense e Sertões Cearenses), localizado na região Nordeste do Brasil. Sua superfície é de 148.826 Km², representando 9,57% dos nove estados da região e 1,74% do território brasileiro, (IPECE, 2011).

O clima predominante é o semiárido, com pluviosidades variando entre 500 e 1000 mm, temperatura média alcançando os 29°C, a estação chuvosa normalmente ocorre entre os meses de fevereiro e maio, podendo ser extrapolado ou não.

A mesorregião Noroeste Cearense é formada por 47 municípios agrupados em sete microrregiões, sendo Sobral, Tianguá, Camocim, Acaraú e Viçosa do Ceará os principais municípios.

A mesorregião Norte Cearense é formada por 36 municípios agrupados em oito microrregiões, sendo Baturité, Beberibe, Canindé, Cascavel, Itapagé, Itapipoca, Paracuru, Pentecoste, os municípios de maior destaque e a mesorregião dos Sertões Cearenses é formada por 30 municípios agrupados em quatro microrregiões: Sertão de Crateús, Sertão dos Inhamuns, Sertão de Quixeramobim e Sertão de Senador Pompeu.

A Mesorregião Metropolitana de Fortaleza (Figura 3), apesar de estar inserida no clima semiárido, está localizada próxima a região serrana, onde as chuvas de verão ocorrem com maior freqüência. O clima é quente, com temperatura anual média de 26,5°C, a média pluviométrica é de 1600 mm aproximadamente, com chuvas concentradas entre os meses de fevereiro e maio, (MAGALHÃES E ZANELLA, 2011).

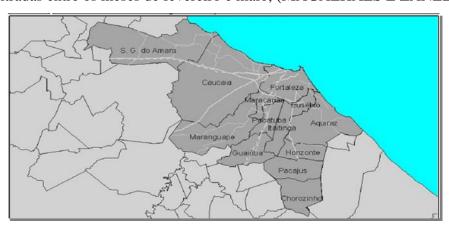


Figura 3: Mesorregião Metropolitana de Fortaleza. http://www.observatoriodasmetropoles.ufrj.br

Os municípios selecionados nas quatro mesorregiões representam 7,06% dos municípios existentes. A população caprina destes equivale aproximadamente ha 16,87% da população total do Ceará, (IPECE, 2011).

As provas sorológicas para determinação de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-CAEV foram realizadas no laboratório de Patologia Clínica da Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral, CE.

2.1. Amostragem

Foram escolhidas propriedades nos municípios com maior representatividade da caprinocultura para o estado do Ceará ou para a Mesorregião (IPECE, 2011).

Para selecionar os produtores foi utilizada amostragem não probabilística. Como universo amostral foram selecionadas propriedades listadas pelo Clube do Berro, SDA-CE e por técnicos da EMATERCE e do INSTITUTO AGROPOLOS. Estas fontes de informações foram utilizadas para identificar, dentro do universo da pesquisa, as principais áreas de produção e para estabelecer contatos locais.

O número mínimo de amostras testadas (n) foi calculado estatisticamente considerando a enfermidade que apresentava menor prevalência de 5%. Erro amostral de 20% e grau de confiança de 95% (ASTUDILLO, 1979)

A amostra foi estratificada segundo a composição aproximada dos rebanhos, definida como: 65% de matrizes, 30% de jovens (seis a doze meses) e todos os reprodutores adultos. Em cada propriedade foi coletado material de 20 caprinos. Esta estratificação permitiu a visualização da doença nos diferentes percentuais que compunham os rebanhos estudados.

Com base nesses critérios, foram estudadas 43 unidades produtoras distribuídas em 13 municípios nas quatro mesorregiões, já mencionadas. (figura 4).



Figura 4: Mesorregiões do Ceará. Fonte: www.baixarmapas.com.br

2.1.2 Questionário

Por ocasião da coleta de sangue nas propriedades selecionadas foi aplicado um questionário (Anexo I), abordando as características físicas das mesmas, a fim de obter informações e estabelecer possíveis condições para disseminação da infecção por *T.gondii* entre os rebanhos.

As características abordadas foram: mesorregião, presença ou ausência de gatos, alimentação dos mesmos, presença de gatos selvagens, origem da água oferecida aos caprinos, onde a água era ofertada, se os gatos tinham acesso a essa água, fonte de água, instalação para estocagem de alimentos dos animais, acesso dos gatos a essas instalações, controle da população de gatos e tipo de controle.

2.1.3 Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada, após rigorosa assepsia na região cervical dos animais, por venipunctura da jugular, usando tubos tipo "Vacutainer" sem anticoagulante. Em seguida, os tubos foram colocados inclinados para coagulação por 12 horas. Os soros obtidos foram enviados para o Laboratório de Patologia Clínica da Embrapa Caprinos e Ovinos e estocados a -20°C, para serem submetidos às análises.

2.1.4. Teste imunoenzimático ELISA para detecção de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii

O ensaio imunoenzimático ELISA, foi à técnica de eleição para realização da sorologia para toxoplasmose, segundo metodologia descrita por Cavalcante et al. (2008).

O antígeno foi preparado no laboratório de Toxoplasmose do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG), a partir de taquizoítos de T. gondii (cepa RH) obtidos por lavagem da cavidade peritoneal, usando solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,2, em camundongos swiss previamente infectados. O material foi centrifugado por 30 segundos a 160g para separação das células do camundongo. O sedimento foi desprezado e o sobrenadante foi lavado por centrifugação. Foram realizadas duas lavagens em PBS pH 7,2 por 10 minutos a 2.000g e ao sedimento foi adicionado 10 mL de PBS pH 7,2. Em seguida foi realizada a contagem das formas parasitárias em câmara hemocitométrica e o número de parasitos ajustados para a concentração final de 1,0 x 10⁹ taquizoítos/mL. Esta suspensão de parasitos foi submetida ao Utrasonic Homogeneizer- 4710 Coler-Palmer Instrument, em cinco ciclos de 40 hertz (em banho de gelo), durante um minuto e com intervalos de um minuto entre cada ciclo, sendo o rompimento dos parasitos acompanhado em microscópio óptico. Após este processamento, o material foi centrifugado a 15.000g sob refrigeração de 40°C durante 30 minutos. O sobrenadante foi estocado a -20°C até o momento do uso. A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Lowry (1951).

Execução da técnica de ELISA

Com objetivo de minimizar as variações que possam ocorrer por ocasião da leitura do ELISA, a realização da técnica foi precedida de padronização onde as diferenças de resultados obtidos com diferentes concentrações de antígeno, diluições do soro e do conjugado, entre outras variáveis foram avaliadas.

Para realização da técnica foram utilizadas microplacas de 96 orifícios (MAXISORP NUNC-IMMUNO PLATE – Dinamarca).

- As placas foram sensibilizadas previamente com $100\mu L$ de antígeno em cada poço na quantidade de $0,125\mu g/poço$, diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6), seguindo-se de incubação por uma hora a $37^{\circ}C$, armazenada em geladeira "overnight" a $4^{\circ}C$.
- O excesso de antígeno foi removido por quatro lavagens com Solução Salina Tween 20 (SST).
- O bloqueio foi realizado com 100μL de solução caseína a 2% em todos os poços, seguido de incubação da placa a 37°C por 1 hora. Após esse tempo foram realizadas quatro lavagens com SST.
- Os soros na diluição única de 1:100, foram distribuídos em duplicata nos orifícios da placa, seguida da incubação a 37°C por 45 minutos.
 - Após este período, foi realizada uma série de quatro lavagens com SST.
- Foram adicionados a cada poço da placa 100μL de conjugado (SIGMA,
 ALDRICH A-5420), anti-IgG caprina marcada com peroxidase na diluição de 1:15000.
- Após 45 minutos de incubação, as placas foram lavadas (série de quatro lavagens com SST).
- Em seguida foi adicionado em cada poço, $100\mu L$ do substrato ($3\mu g$ de σ phenylinediamine em 15 mL de solução de ácido cítrico e $3\mu L$ de (H_2O_2 30 volume).

A reação foi interrompida após 15 minutos com $30\mu L$ de H_2SO_4 (1:20) em todos os poços e a leitura realizada em leitor de ELISA (BIO RAD Modelo 680), com filtro de 490nm.

O ponto de corte foi à média de absorbância de seis amostras de soro de caprinos negativos para *T. gondii* mais três desvios padrões testados em cada placa.

A média dos soros testados em duplicata foi dividida pelo valor do ponto de corte da placa com o objetivo de determinar o índice de reatividade (IR). Soros com valores de IR \geq 1 foram considerados positivos.

Paralelamente ao ELISA convencional foi realizado um teste de avidez de anticorpos IgG, em 531 amostras de soros dos animais que reagiram positivamente, utilizando a uréia (6M) como agente dissociante da ligação antígeno anticorpo. O objetivo da utilização deste agente foi determinar se a infecção presente nos rebanhos estudados era recente ou crônica (BAHIA et al., 1995; SUARES-ARANDA et al., 2000).

A técnica foi realizada de acordo com protocolo descrito por (BAHIA et al., 1995), com algumas adaptações segundo (COZON et al. 1998).

A diluição dos soros, concentração de antígeno e diluição de conjugado bem como as demais etapas da técnica foram às mesmas utilizadas no ELISA convencional.

Os soros foram ensaiados em duas séries duplicadas na mesma placa, de tal forma que nas colunas 7 a 12 de cada placa, foram processados os mesmos soros das colunas de 1 a 6, sendo uma metade da placa uma réplica idêntica da outra metade.

Após este período de incubação uma série de três lavagens foi realizada. Na primeira lavagem uma das séries (coluna de 1 a 6) foi lavada com PBS-T (100μL/poço) e a outra série (colunas 7 a 12) com uréia 6M em PBS-T (100μL/poço) sob agitação por 5 minutos. As outras duas lavagens foram feitas com PBS-T (100μL/poço) sob agitação, também em dois ciclos de cinco minutos.

A partir da adição do conjugado o procedimento foi idêntico ao descrito para o ELISA convencional.

A avidez de anticorpos IgG foi calculada como a razão entre a absorbância média para cada soro, obtida nos orifícios tratados com uréia (AU) pela absorbância média de orifícios não tratados (A) expressos em percentagem: AU/A x 100 (COZON et al., 1998).

Segundo (SUAREZ ARANDA et al., 2000), valores de avidez ≥ 50% indicam toxoplasmose crônica, enquanto valores <50% indicam infecção recente.

2.1.5. IDGA e "Western Blot" para detecção de anticorpos anti-CAEV

O antígeno utilizado na técnica de IDGA foi preparado conforme metodologia descrita em Pinheiro (2001) e Pinheiro et al. (2006), utilizado-se sobrenadantes de cultivo de células oriundas de articulações cárpicas. Após congelamento e descongelamento, o sobrenadante foi clarificado por centrifugação a 3.300g a 4°C por 20 minutos e armazenados a -20°C até a purificação.

Após clarificação, o sobrenadante foi submetido à técnica de ultrafiltração em sistema AMICON®, em membrana de 10 KDa onde o material retido no sistema foi retirado e tratado com éter durante 10 minutos para destruição das glicoproteínas e liberação das proteínas internas do virion, em seguida foi armazenado a -20°C até a realização dos testes.

Para a execução da microtécnica de IDGA seguiu-se o protocolo adaptado por Pinheiro (2001).

Foi preparado gel de agarose a 0,9% em tampão fosfato salino. Esse gel foi distribuído em lâminas, perfuradas com uma roseta padrão de seis poços equidistantes e preenchidos com uma quantidade de 20µL de soros testes, nas posições 2, 4 e 6; soro padrão reagente ou positivo nos poços 1, 3 e 5 e o antígeno no poço central.

As lâminas foram colocadas em câmara úmida (azida sódica 1%) à temperatura de aproximadamente 25°C.

A leitura para a visualização das linhas de precipitação foi realizada entre 48-72 horas, com luz indireta sobre fundo escuro, sendo considerada definitiva a segunda leitura.

A obtenção do antígeno e a realização da técnica de WB foi realizada através de protocolos descritos por Pinheiro et al. (2011).

Inicialmente as proteínas do antígeno foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) conforme protocolo descrito por (LAEMMLI, 1970). Em seguida o gel foi retirado colocado em tampão de transferência para a membrana de nitrocelulase. Após a transferência, a membrana foi corada e lavada com água destilada até a visualização das bandas de proteínas. Em seguida foi realizado o bloqueio da mesma com PBS-T 0,3% acrescido de soro negativo a 0,5% por 1 hora.

Após esse tempo, realizou-se um ciclo de três lavagens por cinco minutos cada.

Os soros teste na diluição de 1:50 foram acrescentados. Após 30 minutos realizaram-se três lavagens por cinco minutos. Em seguida foi adicionado o conjugado de coelho anti-cabra peroxidase (SIGMA) na diluição de 1:12000 por 60 minutos. Posteriormente, a membrana foi lavada com PBS Tween 0,05% por três vezes, cinco minutos cada e com PBS, duas vezes também com duração de cinco minutos cada. Para a revelação foi preparada uma solução de DAB/4-Cloronapthtol (solução A- 12 mg de Diaminobenzidine em 12mL de PBS e solução B- 5mg de 4-Chloronapthol) acrescidas de 2 mL de metanol mais 10 mL de PBS. As duas soluções foram misturadas e posteriormente adicionadas 10 µL de H₂O₂ a 30% derramadas sobre a membrana e protegida da luz por aproximadamente 30 segundos. Todas as etapas, com exceção da revelação, foram realizadas sob agitação. No final, a membrana foi lavada com água destilada e secada em papel de filtro e realizada a leitura.

3. ANÁLISE DOS DADOS

As informações obtidas no questionário aplicado por ocasião das coletas e os resultados das análises sorológicas foram codificadas e digitadas no programa Windows Excel. Após a digitação foram feitas a consistência dos dados e correções das divergências encontradas.

A análise univariada dos dados e a avaliação estatística significativa foram realizadas pelo teste de qui-quadrado ou exato de Fisher, considerando-se um nível de significância de 5%. Utilizou-se como medida de associação o cálculo de *Odds Rattio* (OR), com intervalo de confiança (IC) de 95%. Foram utilizados testes não paramétricos para avaliar a ocorrência da toxoplasmose de acordo com as respostas obtidas no questionário.

Para análise de dados foi utilizado o programa SAS (2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 833 caprinos selecionados e examinados para presença de anticorpos anti-T.gondii, 173 (20,77%) eram procedentes de municípios localizados na Mesorregião Metropolitana de Fortaleza; 78 (9,36%) de municípios localizados na Mesorregião Norte; 233 (27,97%) de municípios localizados na Mesorregião Sertões Cearense; 349 (41,90%) de municípios localizados na Mesorregião Noroeste. Desse total, 680 (81,63%), eram fêmeas e 153 (18,37%) machos.

Entre os municípios estudados a ocorrência da toxoplasmose variou de 38,00% a 95,00% e entre as mesorregiões de 52,14% a 75,72%. A diferença entre as taxas de soropositividade pode ser explicada por fatores climáticos, sistemas de criação, tipos de solos e até mesmo pela diferença entre as raças. Os resultados obtidos revelaram que do total de animais testados 63,87% (532/833) apresentaram-se positivos no teste (Tabela 1).

Tabela 1: Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (N=833) em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de municipios pertencentes a quatro Mesorregiões do Ceará, Brasil, 2013.

-		Amostras	Amostras	
MESORREGIÃO	MUNICÍPIOS	examinadas	positivas	%
	Aquiraz	58	47	81,0%
Metropolitana de	Caucaia	36	26	72,2%
Fortaleza	Eusébio	40	23	57,5%
	Horizonte	39	35	89,7%
Total		173	131	75,72%
	Granja	40	31	77,5%
Noroeste	Santa Quitéria	120	79	65,8%
	Sobral	189	72	38,0%
Total		349	182	52,14%
	Baixo Curu	20	19	95,0%
Norte	Canindé	19	18	94,7%
	Cascavel	39	22	56,4%
Total		78	59	75,64%

	Crateús	37	17	45,9%
Sertões Cearenses	Inhamuns	136	104	76,4%
	Quixeramobim	60	39	65,0%
Total		233	160	68,66%
Total geral		833	532	63,87%

A ocorrência da toxoplasmose neste estudo foi superior a encontrada em Mossoró/RN (37,0%) por Nunes et al. (2013), em Pernambuco (47,6%) por Bispo et al. (2011), em Curitiba 39,41%, Garcia et al. (2012), e no Rio de Janeiro (29,12%), Luciano et al. (2011). Resultados superiores foram encontrados por Silva Filho et al. (2008) na região Sul do Paraná 89,01% e em Minas Gerais Chiari et al. (1987) encontraram 68,00%.

Em todas as propriedades analisadas foram observados casos positivos, assemelhando-se aos encontrados por Figliuolo et al. (2004) que analisaram caprinos do estado de São Paulo e encontraram pelo menos um animal positivo em 100% das 19 propriedades estudadas.

Visto que o estudo foi conduzido em animais oriundos de regiões semiáridas, os resultados mostram que a toxoplasmose está amplamente difundida entre os rebanhos estudados, evidenciando constante circulação do parasito e a falta de medidas de controle.

De acordo com a categoria estudada os animais foram distribuídos da seguinte maneira: Matrizes 520 (62,42%), animais jovens (machos e fêmeas de seis a doze meses) 236 (28,33%) e reprodutores 77 (9,24%). Quanto à raça, 480 (57,62%) eram de raças exóticas (Anglo Nubiana, Saanen e Alpinas); 166 (19,92%) eram mestiços x exóticas (resultante do cruzamento das diferentes raças) e 187 (22,45%) eram animais Sem Padrão Racial Definido e Nativos. Dentro do grupo dos nativos estavam às raças Canindé e Moxotó.

Outra variável importante entre os animais estudados foi o sistema de criação adotado nas propriedades, assim distribuídos: Confinamento 138 (18,70%), semi-intensivo 74 (10,03%), extensivo e semi-extensivo 468 (63,41%). Essa informação abrangeu apenas 738 animais, 95 (11,4%) não foi informado, estendendo-se a finalidade da criação, onde, 214 (29,00%) eram destinados a produção de leite, 98 (13,28%) venda de matrizes e reprodutores e 426 (57,72%) voltados para a produção de carne, produção

mista e pesquisa. Os resultados e a comparação das freqüências para estas variáveis estão representados na Tabela 2.

Tabela 2: Frequência de amostras positivas por messorregião, sexo, categoria, sistema de criação e finalidade de criação em soros de caprinos naturalmente infectados com *T. gondii* testados pelo ELISA, oriundos de diferentes unidades produtoras do Estado Ceará.

	Amostras	Amostras				
VARIÁVEIS	testadas	positivas	%	OR	χ^2	p
Mesorregião						
Metropolitana de	173	131	75,72A	2,86	38,31	<0,05*
Fortaleza						
Norte	78	59	75,64AB			
Sertões Cearenses	233	160	68,66A			
Noroeste	349	182	52,14B	2,01		
Sexo						
Machos	153	88	57,51A			
Fêmeas	680	444	65,29A		3,27	>0,05
Categoria						
Matriz	520	352	67,69A	2,33		
Jovens	281	133	47,33B	0,574	9,33	<0,05*
Reprodutores	77	47	61,03A			
Raça						
Exóticas	480	296	61,66A			
Mestiços/Exóticas	166	113	68,07A			>0,05
SPRD/nativas	187	123	65,77A			
Sistema de Criação						
Confinamento	138	112	81,15A	3,14		
Semi-intensivo	74	53	71,62A	1,84	28,08	<0,05*
Extensivo e semi-	526	304	57,79B			
extensivo						
Finalidade da criação						
Produção de Leite	214	156	72,89A	2,04		
Venda de matrizes e	98	71	72,44A	2,00	19,78	<0,05*
reprodutores						
Produção de carne, mista e	426	242	56,80B			
pesquisa						

Intervalo de Confiança de 95%. (χ^2) Qui-Quadrado. p<0,05* - diferença significativa *Letras iguais na mesma coluna indicam não haver diferença significativa

A análise comparativa entre a soropositividade e as mesorregiões estudadas apontou diferença significativa entre as mesmas, considerando um percentual de

15,73% para Mesorregião Metropolitana de Fortaleza, 7,08% para Mesorregião Norte, 19,21% para os Sertões e 21,85% para a Mesorregião Noroeste.

A Mesorregião Metropolitana de Fortaleza apresentou diferença significativa e risco aumentado em 2,86 quando comparada a Noroeste. Esses resultados podem ser explicados pelas diferenças climáticas, as propriedades pertencentes à Mesorregião Metropolitana de Fortaleza encontram-se próximas ao litoral, onde podem ocorrer chuvas isoladas favorecendo a manutenção dos oocistos viáveis no meio ambiente.

Nos sertões cearenses também houve diferença significativa e risco aumentado em 2,01 em relação a Noroeste. Em média dos 233 animais testados de propriedades localizadas nos Sertões (54,07%) eram de raças exóticas, possivelmente permaneciam por mais tempo no aprisco, onde o manejo e a limpeza das instalações são essenciais para a manutenção do bem estar e da saúde dos mesmos.

Cavalcante (2004) encontrou diferença no percentual de positividade entre as Mesorregiões analisadas, essas diferenças podem ainda estar relacionadas com fatores como manejo, limpeza das instalações, tipos de solos dentre outros fatores que podem favorecer a permanência dos oocistos.

A comparação entre a positividade para toxoplasmose pelo ELISA e o sexo, foi de (53,30%) para as fêmeas e de (10,56%) para os machos. Não houve associação estatística significativa. Estes resultados assemelham-se aos encontrados em São Luiz/MA por Soares et al. (2010); São Paulo por Modolo et al. (2008); e em Mossoró/RN por Lima et al. (2007); diferindo dos encontrados por Fortes et al. (2013) em Londrina/PR; Nunes et al. (2013) em Mossoró/RN; e Garcia (2010) em Curitiba/PR.

É reconhecida uma tendência das fêmeas apresentarem um maior percentual de positividade quando comparadas aos machos, isso pode ser atribuído a eventos que promovem mudanças fisiológicas como estações de monta, estado de prenhez e lactação, (NUNES et al., 2013)

As categorias envolvidas no estudo apresentaram freqüência de positividade de 42,26% para as Matrizes, 15,97% para os animais jovens (machos e fêmeas de seis a doze meses) e 5,64% para os reprodutores. Apresentando diferença significativa entre matrizes e jovens com risco aumentado em 2,33. O maior tempo de permanência das matrizes nos rebanhos deve ser considerado como um fator importante no estabelecimento da infecção.

A comparação entre animais jovens e reprodutores apresentou diferença significativa e risco aumentado em 0,574 para a categoria jovem. Sugerindo a possibilidade de outras formas de contaminação, possivelmente através da ingestão de leite da própria matriz ou no momento da desmama e introdução desses animais nas pastagens.

Quanto à raça não houve diferença significativa entre as mesmas. Confirmando resultados encontrados por Pereira et al. (2012); Medeiros (2010); Uzeda et. al. (2004).

A freqüência de animais positivos pelo ELISA quando comparados aos sistemas de criação foi de 15,18% para os confinados, 7,18% para os criados em regime semi-intensivo e 41,19% para o extensivo, apresentando diferença significativa entre o confinamento e o extensivo, com risco aumentado em 3,14. Da mesma forma ocorreu para o regime semi-intensivo e extensivo e o risco foi de 1,84. Corroborando com os encontrados por Pereira et al. (2012) e Pires (2009).

Animais submetidos aos regimes de confinamento e semi-intensivo passam maior parte de sua vida recolhidos no aprisco, nesse caso, o manejo e a limpeza das instalações podem contribuir para um aumento na disseminação de algumas doenças.

A freqüência de positividade para a finalidade da criação foi de 21,14% para os animais destinados a produção de leite, 32,79% para produção mista seguido de 9,26% para aqueles destinados a venda de matrizes e reprodutores. Houve diferença significativa entre os produtores de leite e produção de mista com risco aumentado em 2,04.

Resultados semelhantes foram encontrados por (PEREIRA et al.; 2012). Esses animais são em sua maioria de raças exóticas, mais exigentes em alimentação e manejo por sua vez considerados susceptíveis a doenças e em consequência da finalidade permanecem mais tempo confinados e em alguns casos em maior densidade.

Os destinados a produção mista comparados aos direcionados para a venda de matrizes e reprodutores tiveram um risco aumentado em 3,0 vezes.

4.1.1 ELISA para determinar a avidez de IgG

Das 531 amostras analisadas para determinar a avidez, 398 (74,95%) apresentaram anticorpos IgG de alta avidez (infecção crônica) e 133 (25,05%), anticorpos de baixa avidez (infecção aguda). Considerando o número total de animais examinados (N=833), observa-se que 47,08% dos soros testados apresentavam anticorpos de alta avidez e 16,00% anticorpos de baixa avidez.

Foi possível observar que 72 matrizes encontravam-se na fase aguda da infecção. Deve-se considerar a fase reprodutiva e a importância da transmissão transplacentária, com possibilidade de perdas por aborto e má formação fetal, além de favorecer a disseminação e a permanência da infecção entre os rebanhos, corroborando com os resultados encontrados por Medeiros (2010) e Nunes et al. (2013).

4.1.2 Características físicas das unidades produtoras

Das 43 propriedades analisadas nas diferentes mesorregiões estudadas somente 88,37% (38/43), responderam ao questionário, destas, 81,58% (31/38) afirmaram possuir gatos, (Tabela 4).

Tabela 3: Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de unidades produtoras de diferentes mesorregiões do Estado Ceará, com presença e ausência de gatos domésticos.

Mesorregião			Gatos doi	mésticos		
	Presença	(%)	Ausência	(%)	χ^2	p
Metropolitana de Fortaleza	6	15,79	1	2,63	3,25	>0,05
Norte cearense	2	5,26	2	5,26		
Sertões cearenses	8	21,05	2	5,26		
Noroeste cearense	15	39,47	2	5,26		
Total	31	81,57	7	18,41		

Quanto à alimentação dos gatos 2,63% das propriedades (1/38) ofertavam apenas ração. Em 5,26% (2/38), os gatos eram alimentados com sobra de alimentos e do

que caçavam; em 26,32% (10/38) alimentavam-se de leite, sobra de alimentos, vísceras de animais abatidos e do que caçavam; 18,42% (7/38) alimentavam seus gatos somente com sobra de alimentos, 26,32% (10/38) eram alimentados com uma ou mais opções.

Em 50% das propriedades visitadas foi apontada a presenças de gatos selvagens.

Tabela 4: Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de unidades produtoras de diferentes mesorregiões do Estado Ceará, com presença e ausência de gatos selvagens.

Mesorregião	Gatos selvagens					
		%		%	χ^2	p
	Presença		Ausência			
Metropolitana de Fortaleza	-	-	7	18,42	16,07	< 0,05
Norte cearense	-	-	4	10,53		
Sertões cearenses	8	21,05	2	5,26		
Noroeste cearense	11	29,95	6	15,79		
Total	19	50,0	19	50,0		

Quanto à origem da água ofertada aos caprinos, 15,79% (6/38) era proveniente de cacimbas, 44,74% (17/38) de açudes, 5,26% (2/38) de poço profundo, 7,89% (3/38) de poços artesianos, 21,05% (8/38) de duas ou mais fontes, 5,26% (2/38) de outras fontes (CAGECE, cisternas, etc.).

Com relação à maneira de ofertar a água aos animais em 39,47% das propriedades (15/38) a água era ofertada em vasilhame dentro das instalações, 5,26% (2/38) em vasilhames fora das instalações, 13,16% (5/38) dos caprinos bebiam direto da fonte (açude, cacimba, etc), 34,21% (13/38) de duas ou três formas, (dentro, fora e/ou direto da fonte), 7,89% (3/38) de outras formas não especificadas. Em 52,63%, das propriedades, (20/38) os gatos tinham acesso à água ofertada aos caprinos. 68,42% (26/38) possuíam instalações para estocar os alimentos fornecidos aos caprinos, em 36,84% delas (14/38) os gatos tinham acesso a essas instalações.

A observação de gatos se alimentando de restos placentários representou apenas, 26,32% (10/38) enquanto, 73,68% (28/38) alegaram nunca ter visto tal fato. Com relação ao controle da população de gatos, 10,53% (4/38) controlam a população de gatos e 89,47 (34/38) não faziam nenhum tipo de controle.

4.1.3. Valores de ocorrência da toxoplasmose por variável de acordo com questionário

Foram utilizados testes não paramétricos para avaliar a ocorrência da toxoplasmose de acordo com as respostas obtidas no questionário. Apenas foram significativas as diferenças entre Mesorregiões, presença de gatos selvagens, local onde é ofertada a água aos caprinos, onde havia instalações para os alimentos, se os gatos têm acesso a estas instalações e se foi observado gatos comendo restos placentários, (Tabela 5).

Tabela 5: Ocorrência da toxoplasmose caprina (N=738) em comparação com variáveis de acordo com o questionário.

Variável	Média(%)	Desvio Padrão	χ^2	р
Mesorregião	()			
Metropolitana de Fortaleza	80,14	16,98	8,46	<0,0,5*
Mesorregião Norte	76,00	28,35		
Sertões Cearenses	70,60	21,69		
Noroeste Cearense	49,76	27,07		
Presença de Gatos				
Não	72,00	24,08	159,00	>0,05
Sim	61,39	27,15		
Alimentação dos gatos				
Ração	44,00		12,00	>0,05
Outros	63,86	26,80		
Presença de Gatos				
Selvagens				
Sim	50,47	28,29	458,50	<0,05*
Não	76,21	17,55		
Origem da Água ofertada				
aos caprinos				
Cacimba	76,50	20,87	8,33	>0,05
Açude	50,35	28,75		
Lagoa	85,00	14,14		
Poço artesiano	82,33	5,86		

Poço profundo	62,12	21,54		
Outros	89,00	8,48		
Local onde a água é				
oferecida aos Caprinos				
Dentro das instalações	75,20	19,10	362,50	<0,05*
Fora das instalações	55,61	28,33		
Acesso dos gatos água ofertada aos caprinos Sim	52,65	28,58	429,00	<0,05*
Não	75,22	18,63		
Instalação para estocar				
alimentos				
Sim	56,08	27,50	30,40	<0,05*
Não	79,08	16,47		
Acesso de gatos a essas				
instalações				
Sim	39,93	21,47	139,50	<0,01*
Não	77,00	18,77		
Observação de gatos se				
alimentando de restos				
placentários				
Sim	35,10	23,87	1,00	<0,01*
Não	73,43	19,52		
Controle população de				
gatos				
Sim	65,75	18,86	76,50	>0,05
Não	63,06	27,61		
Tipo de Controle				
Castração	50,00	7,07	7,00	>0,05
Outros	81,50	4,95		
	_			

^{*}Houve diferença estatística significativa *Kruskal-Wallis *Mann-Whitney – Wilcoxon

A ocorrência estimada pelo número de animais positivos em relação ao número de animais testados considerando as variáveis do questionário apontou uma maior média na Mesorregião Metropolitana de Fortaleza.

A presença de gatos domésticos ou selvagens é vista como um fator de risco que favorece a transmissão da toxoplasmose nas unidades produtoras de caprinos. Nesse estudo, não houve associação entre a presença de gatos domésticos e/ou selvagens e a ocorrência da enfermidade, ao contrário do esperado, as maiores médias ocorreram naquelas propriedades onde não era observada a presença desses felídeos. Esses resultados confirmam os encontrados por Soares et al. (2010) e Pereira et al. (2012), evidenciando a possibilidade da contaminação por ingestão de água ou pastagem contaminada por oocistos possivelmente carreados, por enxurradas, pelo vento, ou outras condições físicas e ou mecânicas, como por exemplo o ato de lamber fômites ou outros animais que ocasionalmente tenham tido contato com felídeos.

O local onde a água era ofertada aos caprinos apresentou maior média de ocorrência e diferença significativa quando oferecida dentro das instalações, embora não tenha sido abordado o tipo de bebedouro, esses resultados assemelham-se aos encontrados por Cavalcante (2004), onde o bebedouro tipo pneu aumentava em 3,07 vezes as chances de infecção, discordando de Nunes et al. (2013), onde os vasilhames fora das instalações ofereciam maior risco. Onde os gatos não tinham acesso a água também foi observada maiores médias.

Outras variáveis como propriedades onde não havia instalações para estocar alimentos, onde os gatos não tinham acesso às mesmas bem como onde não eram observados os gatos se alimentando de restos placentários, apresentaram maiores médias e diferença significativa, sugerindo a atuação de outras formas de contaminação.

O controle da população de gatos e o tipo de controle não apresentaram diferença significativa. Apesar de algumas variáveis acima citadas não terem apresentado associação com a ocorrência da toxoplasmose, é necessário que se observe a atuação das mesmas como potenciais disseminadoras e o papel exercido na manutenção da infecção e na biologia do parasito.

4.1.4. Artrite Encefalite Caprina (CAE)

Dos 833 animais avaliados pelo IDGA para detecção de anticorpos anti-CAEV 3,72% (31/833) apresentaram-se positivos. Os resultados obtidos pelo IDGA foram confirmados pelo "Western Blot", sendo testados todos os animais das propriedades onde havia pelo menos um animal positivo pelo IDGA. Dos 193 animais avaliados pelo WB, 41,45% (80/193), foi soro reagente para CAEV. Considerando o total de animais examinados (n=833) o percentual geral de positividade foi de 9,6%.

O percentual observado nesse estudo foi superior a 1% obtido no estado do Ceará (PINHEIRO; GOUVEIA; ALVES, 2001); e 1,86% em Alagoas (COSTA et al. 2011). Em contrapartida, estudos realizados em Pernambuco, (SILVA et al. 2012); no Rio de Janeiro, (ANDRADE JUNIOR, 2007) e no Pará/Maranhão (PIRES, 2009) foram de 18,01%, 50,27% e 21,06%, respectivamente, portanto superiores aos resultados do presente estudo.

As diferenças encontradas podem estar diretamente relacionada à técnica utilizada ou ainda associada a fatores como sistema de criação e finalidade da criação.

Não houve diferença significativa entre toxoplasmose e CAE. A OR = 2,51 indica que de cada sete animais positivos para toxoplasmose, cinco seriam negativos para Artrite Encefalite Caprina. Esses resultados confirmam a afirmação de Costa et al. (2012), que concluíram não haver diferença significativa entre as duas infecções, sugerindo que a CAE pode apenas influenciar na manifestação clinica da toxoplasmose caprina.

5. CONCLUSÃO

- Os resultados observados permitem concluir que a infecção por *T. gondii* encontra-se amplamente difundida nas unidades produtoras de caprinos do estado do Ceará.
- Os animais das Mesorregiões Metropolitana de Fortaleza e Sertões Cearense apresentam maior risco de contraírem a toxoplasmose.
- Os animais confinados e os criados sob o regime semi-intensivo estão mais propensos a infecção por *Toxoplasma gondii*.
- O sexo dos animais envolvidos no estudo e a presença de gatos nas propriedades, não apresentaram associação estatistica significativa com a ocorrência da toxoplasmose.
 - A ocorrência da CAE não predispõe os animais à infecção pelo T. gondii.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE JUNIOR, C. <u>Soroprevalência do lentivirus de pequenos Ruminantes em rebanhos ovinos e caprinos de microrregiões do estado do Rio de Janeiro</u>, Brasil. 2007. 78 p. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Centro de Ciências de Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2007.

ASTUDILLO, V. M. Encuestas por muestro para estudios epidemiologicos em populaciones animales. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de la Salud – Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1979. 60p.

BAHIA, M. T. et al. A Avidez de anticorpos específicos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG e sua utilização na diferenciação entre toxoplasmose recente e crônica em caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science,** v. 32, n. 1, p. 1-6, 1995.

Base Cartográfica do INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE, Disponível em: http://www.baixarmapas.com.br>. Acesso em 02 de janeiro de 2014.

BISPO, M. S. et al. FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Toxoplasma gondii* EM PROPRIEDADES DE CRIAÇÃO DE CAPRINOS E OVINOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v. 12, n. 2, p. 291 – 297, Junho, 2011.

CAVALCANTE, A. C. R. et al. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.36-41, 2008.

CAVALCANTE, A. C. R. <u>Toxoplasmose caprina no Ceará: Soro-epidemiologia e Caracterização de Cepas de *Toxoplasma gondii*. 2004. 129 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.</u>

CARNEIRO, A. C. A. V. et al. Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii* Revealed Highly Diverse Genotypes for Isolates from Newborns with Congenital Toxoplasmosis in Southeastern Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 901-907, March, 2013.

CHIARI, C. de A. et al. Soro-epidemiologia da Toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 587-609, 1987.

COSTA, A. B. B. et al. Inquérito soroepidemiológico de lentivirus de pequenos ruminantes no município de Delmiro Gouveia, Alagoas – Brasil. **Revista Semente**, v. 6, n. 6, p. 229-239, 2011.

COZON, G. J. N. et al. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 32-36, January, 1998.

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

FORTES, M. S. <u>TOXOPLASMOSE EM CAPRINOS DO ESTADO DO PARANÁ E</u> <u>COMPARAÇÃO DE TESTES PARA SORODIAGNÓSTICO.</u> 2013. 70 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Estadual de Londrina. Paraná, 2013.

GARCIA, G. *et al. Toxoplasma gondii* in goats from Curitiba, Paraná, Brazil: risks factors and epidemiology. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p. 42-47, jan.-mar. 2012.

GARCIA G. Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina na Mesorregião Metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. 2010. 122 p. Dissertação de Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2010.

IPECE 2011. INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ. Disponível em: http://www2.ipece.ce.gov.br>. Acesso em 04 de janeiro de 2014.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, Agosto, 1970.

LIMA J. T. R. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n.2, p.81-86, November, 2007.

LOWRY, O. H.; et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal Boil. Chemical,** v. 193, p. 265-275, 1951.

LUCIANO, D. M. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em caprinos e ovinos de três municípios do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira,** v. 31, n. 7, p. 569 – 574, Julho, 2011.

MAGALHÃES, G. B.; ZANELLA, M. E. Comportamento climático da região metropolitana de Fortaleza. **Mercator – Revista de Geografia da UFC** (Universidade Federal do Ceará). v. 10, n. 23, p. 129-145, Stembro-Dezembro, 2011. Disponível em: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=273621468011>. Acesso em 18 de janeiro de 2014.

MEDEIROS, A. D. <u>Ocorrência da infecção por Toxoplasma gondii e avaliação da imunização em caprinos do sertão do Cabugi, Rio Grande do Norte</u>. 2010. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) — Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Natal, RN, 2010.

MODOLO, J. R. et al. Avaliação da ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, em soros de caprinos do estado de São Paulo, e associação com variáveis epidemiológicas, problemas reprodutivos e riscos à saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 606 – 610, Dezembro 2008.

NUNES, F. V. A. et al. Soroprevalência e fatores associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos de propriedades rurais do município de Mossoró, RN. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 566 – 570, Maio 2013.

PEREIRA, M. F. et al. Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 140 – 146, Fevereiro, 2012.

PINHEIRO, R. R. <u>VIRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA</u>: <u>Desenvolvimento</u> <u>e padronização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA e *Dot-Blot*) e estudo <u>epidemiológico no Estado do Ceará</u>. 2001. 115 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Minas Gerais, 2001.</u>

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 449-454, 2001.

PINHEIRO, R. R. et al. Desenvolvimento de dot-blot para detecção de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em caprinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 101, p. 557-558, 2006.

PINHEIRO, R. R. et al. Protocolo de Imunnoblotting para diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina. Embrapa Caprinos e Ovinos, Comunicado Técnico 122; metodologia científica. ISSN 1676-7675. Setembro, 2011.

PIRES, C. R. Estudo soroepidemiológico de *Brucella abortus*, *Toxoplasma gondii* e Vírus da Artrite Encefalite Caprina em rebanhos caprinos nas unidades produtoras dos Estados do Pará e Maranhão. 2009. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belém, 2009.

SAS INSTITUTE. Sas user's guide: statistics. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2009.

SILVA, J. G. et al. Soroprevalência de Lentivírus em caprinos leiteiros. **Medicina Veterinária**, Recife, v.6, n.3, p.9-12, jul-set, 2012.

SILVA FILHO, M. F. et al. *Toxoplasma gondii*: abortion outbreak in a goatherd from Southern Brazil. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 887 – 894. Dezembro, 2008.

SOARES, J. G.; SILVA, M. I. S.; BRANDÃO, V. M. FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM REBANHOS CAPRINOS DO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MA. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 660 – 668, Setembro. 2010.

SUAREZ-ARANDA, F. et al. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. **Veterinary Parasitology**, n. 91, p. 23-32, 2000.

STACHISSINI, A. V. M. <u>Influência da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina nos perfis soro-epidemiológicos em caprinos infectados pelo *Toxoplasma gondii* e <u>Neospora caninum.</u> 2005. 119 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) -</u>

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootencia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2005.

UZÊDA, R. S. et al. Fatores relacionados a presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros da Bahia. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2004.

CARACTERISTICAS GERAIS DA PROPRIEDADE E DO PRODUTOR	
Propriedade:	·
Identificação do produtor.	
Nome:apelido:	
Dados referentes a ausência ou presença de felídeos na propriedade	
1. Quantos cães domésticos existem na propriedade?	
N° de Gatos	
2. Do suo og gotog go olimentom?	
2. De que os gatos se alimentam? Alimentos	<u>()</u>
Ração	
Somente do que caçam	
Sobra de alimentos e caça	
Vísceras de animais abatidos na propriedade	
Leite	
Leite, sobras de alimento, vísceras, caça	
*Sobra de alimentos	
*Sobras de alimento – arroz, feijão, farofa, restos de carne, pedaços de pão etc.	
3. Na área onde está localizada a propriedade é comum a presença de g selvagens? Sim () Não ()	gatos
4. Os gatos (domésticos ou selvagens) têm acesso água oferecida aos caprinos.	
Sim () Não () Às vezes ()	
5. Na propriedade existe alguma instalação utilizada para estocar alime	entos
destinados a suplementação de caprinos? Sim () Não ()	
6. A água oferecida aos caprinos é proveniente de:	

Anexo I (Questionário).

Fontes de água	(X
Cacimba	
Açude	
Lagoa	
Poço Profundo	
Cisterna	
Poço artesiano	
A água é oferecida aos caprinos em:	
Forma de ofertar água aos animais	(X)
Vasilhames dentro das instalações	
Vasilhames fora da instalações	
Os caprinos e ovinos bebem direto na fonte – Açude, barragem, etc	
Ds gatos (domésticos ou selvagens) têm acesso a estas instalações?	
Sim () Não () Às vezes ()	
á foi observado gatos se alimentando de restos placentários?	
Sim () Não ()	
É feito algum controle da população de gatos na propriedade?	
Sim () Não ()	
No caso de positivo qual o tipo de controle?	
TIPO DE CONTROLE	(X)
Castração dos machos	
Esterilização de fêmeas – (castra)	
Sacrifício	
l l	
Doação dos cães recém nascidos	