

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

WELLINGTON ALVES DE FREITAS

**SOROLOGIA PARA *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS
ABATIDOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL EM
ABATEDOURO NO ESTADO DE MINAS GERAIS,
BRASIL**

UBERLÂNDIA - MG

Junho - 2017

WELLINGTON ALVES DE FREITAS

**SOROLOGIA PARA *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS
ABATIDOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL EM
ABATEDOURO NO ESTADO DE MINAS GERAIS,
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Clínica Médica e Investigação Etiológica

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

Co-orientadora: Profa. Dra. Kênia de Fátima Carrijo

UBERLÂNDIA - MG
Junho – 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F866s Freitas, Wellington Alves de, 1990

2017 Sorologia para *Toxoplasma gondii* em equídeos abatidos sob Serviço de Inspeção Federal em abatedouro no estado de Minas Gerais, Brasil / Wellington Alves de Freitas. - 2017.

50 p. : il.

Orientador: Marcus Vinícius Coutinho Cossi.

Coorientadora: Kênia de Fátima Carrijo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. *Toxoplasma gondii* - Teses. 3. Sorologia veterinaria - Teses. 4. Eqüinos - Doenças - Teses. I. Cossi, Marcus Vinícius Coutinho. II. Carrijo, Kênia de Fátima. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. IV. Título.

**SOROLOGIA PARA *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS ABATIDOS SOB
SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL EM ABATEDOURO NO ESTADO DE
MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Ciências
Veterinárias da Universidade Federal
de Uberlândia, como requisito à
obtenção do título de Mestre em
Ciências Veterinárias.

Área da concentração: Clínica Médica
e Investigação Etiológica.

Uberlândia, 27 de junho de 2017.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Kênia de Fátima Carrijo

Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof. Dr. Paulo Lourenço da Silva

Professor Aposentado da Universidade Federal de Uberlândia

Profa. Dra. Patrícia Riddell Miliar Goulart

Universidade Federal Fluminense (UFF)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

WELLINGTON ALVES DE FREITAS, nascido na cidade de Viçosa, Minas Gerais aos dois dias do mês de julho de mil novecentos e noventa. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia no ano de 2014. Funcionário público concursado pela Prefeitura Municipal de Araguari, Minas Gerais no cargo de Médico Veterinário. Atualmente trabalha cedido ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, conforme Termo de Cooperação Técnica entre este órgão e o Município de Araguari, exercendo o cargo de Médico Veterinário conveniado no Serviço de Inspeção Federal responsável pelo SIF – 809 (Santa Lúcia Indústria e Comércio de Carnes LTDA).

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e oportunidade de realizar este trabalho.

À Universidade Federal de Uberlândia pela principal contribuição para a minha formação acadêmica de Médico Veterinário.

Aos meus pais Joel (*in memoriam*) e Elza, e meu irmão Weslley por estarem ao meu lado em momentos de alegria e em momentos difíceis contribuindo de forma direta e imprescindível para o meu aprendizado e para minhas conquistas.

À Camila que nos muitos anos juntos, vividos e a viver; compartilhados com afeto, respeito e companheirismo, sendo responsável diretamente por grande parte das minhas realizações.

A Waldemiro, Nair e Inês pelo exemplo de vida e religiosidade, assim como a meus avós paternos que estão em lugar justo.

A Dra. Fernanda Alves pelos substanciais ensinamentos diários e extensa contribuição na minha formação pessoal e profissional.

À professora Kênia pelo valioso conhecimento, paciência e disponibilidade; sendo imprescindível para a conclusão deste trabalho.

Aos professores Marcus Vinícius e Paulo Lourenço pela contribuição no fechamento de mais este ciclo.

Ao Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto Biomédico, na Universidade Federal Fluminense, Niterói – Rio de Janeiro e ao Laboratorio de Toxoplasmose e outras Protozooses – Labtoxo – IOC, Fiocruz. Rio de Janeiro.

Aos amigos próximos do dia a dia e àqueles distantes pelas inúmeras experiências de vida compartilhadas, companheirismo e grandes lições de vida.

SÚMARIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	7
1. Introdução.....	7
2. Rebanho e produção brasileira de carne de equídeos	8
3. <i>Toxoplasma gondii</i> e Toxoplasmose	9
4. Ciclo biológico do <i>T. gondii</i>	12
5. Epidemiologia	13
6. Toxoplasmose em equídeos	16
7. Toxoplasmose em animais de produção	19
8. Diagnóstico.....	20
9. Profilaxia	22
10. Referências	24
CAPÍTULO 2 - OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM EQUÍDEOS ABATIDOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL EM MATADOURO FRIGORÍFICO NO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL	36
1 – Introdução	37
2 - Materiais e métodos	38
3 - Resultados.....	38
4 – Discussão.....	39
5 – Conclusões.....	41
6 – Referências.....	41
7- Tabelas.....	45
8- Apêndice.....	48
9- Instruções aos Autores.....	49

SOROLOGIA PARA *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS ABATIDOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL EM ABATEDOURO NO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

RESUMO – A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, coccidiose dos felídeos; que acomete animais homeotérmicos, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. A transmissão pode ocorrer através da ingestão de tecido muscular contendo cistos do parasita; através da ingestão de oocistos eliminados nas fezes de gatos por hospedeiros intermediários, ou ainda a transmissão congênita, transplacentária. Os equídeos podem vincular o protozoário para a população humana, mediante consumo de carne crua ou malcozida, ou a ingestão do leite de asininos. O Brasil é um dos maiores exportadores de carne equídea do mundo, sendo apenas três os frigoríficos no país habilitados a exportação. O estudo teve como objetivo pesquisar anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii* em soros de asininos e equinos procedentes das regiões Nordeste e Centro Oeste do Brasil, abatidos em matadouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Sanitária Federal (SIF). Foi avaliado o soro de 400 equídeos (192 equinos e 208 asininos) dos estados da Bahia, Goiás e Piauí, através da técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Do total de amostras, 13,5% foram positivos para anticorpos específicos para *T. gondii*, sendo 18,75% de equinos positivos e 8,65% de asininos. O estado de Goiás apresentou 9% de animais reagentes, em relação ao total de amostras analisadas para as duas espécies, representando a maior frequência por estado. Estatisticamente o gênero não influenciou os resultados para nenhuma espécie. Foi verificada associação ($p<0,05$) entre a positividade da espécie equina com os resultados encontrados.

Palavras-Chave: asininos, equinos, *Toxoplasma gondii*, sorologia

**SOROLOGY OF EQUIDAE SLAUGHTERED UNDER FEDERAL INSPECTION
SERVICE FOR TOXOPLASMOSIS IN SLAUGHTERHOUSE IN THE STATE
OF MINAS GERAIS, BRAZIL**

SUMMARY - Toxoplasmosis is a zoonosis of global distribution, coccidiosis of felids; which affects homeothermic animals, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*. Transmission may occur through ingestion of muscle tissue containing cysts from the parasite; through ingestion of oocysts eliminated in cat feces by intermediate hosts, or congenital, transplacental transmission. Equidae can link the protozoan to the human population by consuming raw meat or undercooked, or by eating the milk of asinines. The Brazil is one of the largest exporters of equidae in the world, with only three of the slaughterhouses in the country being exported. The objective of this study was to investigate IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* in asinine and equine sera from the Northeast and Central West regions of Brazil, slaughtered in a slaughterhouse under the Federal Inspection Sanitary Service (FIS). The serum of 400 equidae (192 equines and 208 asinines) from the states of Bahia, Goiás and Piauí was evaluated using the indirect immunofluorescence technique (IFR). Of the total samples, 13.5% were positive for antibodies specific for *T. gondii*, being 18.75% positive horses and 8.65% asinine. The state of Goiás presented 9% of reactive animals, in relation to the total of samples analyzed for the two species, representing the highest frequency per state. Statistically the genus did not influence the results for any species. The association ($p<0.05$) between the equine positivity and the results found was verified.

Key words: asininos, equines, sorology, *Toxoplasma gondii*.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

Os equinos são animais utilizados em diversas atividades pelo homem; como transporte, montaria, terapia de suporte a tratamentos médicos, agricultura e esportes. Os asininos são animais para o uso de selas, montarias e transporte de cargas. No Brasil em 2014, o rebanho de equinos foi estimado em 5,45 milhões de cabeças, distribuídos em 24,2% na Região Sudeste; 22,9% no Nordeste; 19,2% no Centro-Oeste; 17,7% no Sul; e 16,1% no Norte. Os estados com a maior concentração deste efetivo foram Minas Gerais (14,0%), Rio Grande do Sul (9,9%) e Bahia (8,6%). Em nível municipal, os maiores rebanhos de equinos estavam localizados em Corumbá (MS), Santana do Livramento (RS) e Alegrete (RS). Os asininos eram aproximadamente 950 mil cabeças, concentrados em quase a totalidade no Nordeste, nos estados da Bahia, Ceará, Piauí, Pernambuco e Rio Grande do Norte (IBGE, 2014).

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial. Seu agente etiológico, *Toxoplasma gondii*, é um coccídeo heteroxeno facultativo que pode parasitar todos os animais homeotérmicos (TENTER et al., 2000). Na cadeia epidemiológica desta infecção os felídeos se apresentam como hospedeiros definitivos, sendo responsáveis pela eliminação do parasita nas fezes e, consequentemente, pela contaminação ambiental (JACOBS, 1974). Mamíferos, incluindo o homem, os equídeos e o próprio gato doméstico, e as aves, atuam no ciclo biológico como hospedeiros intermediários (TENTER et al., 2000).

Sua transmissão pode ocorrer através da ingestão de cistos teciduais presentes nos tecidos, principalmente tecido muscular; seja pela ingestão por hospedeiros definitivos e intermediários de carne crua ou malcozida, ou através da ingestão de presas caçadas, sendo esta a fonte de infecção primária em gatos. Outra forma, pode ser através da ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos infectantes, oocistos estes que são eliminados nas fezes de felinos e que, no ambiente, sob condições ideais, se tornam esporulados, sendo que estes podem ser transportados por baratas, moscas e minhocas. E por fim, a transmissão congênita (transplacentária), que pode causar abortos ou o nascimento de natimortos (BIRCHARD; SHERDING, 1998).

Os equídeos estão dentre as espécies domésticas mais resistentes à infecção por *T. gondii*, dificilmente apresentando sintomatologia clínica (DUBEY & DESMONTES, 1987), porém anticorpos anti *T. gondii* e bradizoítos do parasita em tecido muscular, já foram descritos em cavalos clinicamente sadios (DUBEY et al., 1999a). Formas viáveis do *T. gondii* têm sido isoladas de uma extensa gama de carnes e seus derivados, e estudos sorológicos tem evidenciado ampla distribuição da infecção entre os animais produtores desses alimentos (MILLAR et al., 2008a,b;). A ausência de métodos diagnósticos que identifiquem o parasitismo pelo *T. gondii* na linha de abate, faz do diagnóstico sorológico, em animais, uma importante ferramenta para que se identifique a infecção podendo apontar medidas profiláticas para as populações expostas. A soro prevalência de equinos já foi objeto de estudo em outros países, e ainda o risco que humanos podem assumir consumindo carne crua ou malcozida de equídeos (DUBEY et al., 2002); porém ainda são necessários estudos que incluem os asininos.

O Brasil é um importante mercado produtor de carne de equídeos. No país são atualmente três plantas frigoríficas (Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná) habilitadas para exportação do produto para mercados como União Europeia, Vietnã, África do Sul e Hong Kong. São produzidos cortes do dianteiro e traseiro, congelados ou resfriados; além do comércio de miúdos e subprodutos não comestíveis (IBGE, 2014).

O papel dos animais de abate nessa cadeia epidemiológica é importante ferramenta disponível para os profissionais da área de saúde. O levantamento sorológico é ferramenta no diagnóstico desta parasitose; a fim de que se possa avaliar a atuação desses animais como fonte de infecção do *T. gondii*, indicando medidas profiláticas para as populações.

O estudo objetivou avaliar a ocorrência de anticorpos anti *T. gondii* em soros de equídeos abatidos sob Serviço de Inspeção Sanitária Federal no Brasil, além de avaliar a influência da espécie e procedência com os resultados sorológicos, os fatores de risco, e assim contribuir com dados epidemiológicos dessas espécies para as políticas públicas de saúde.

2. Rebanho e produção brasileira de carne de equídeos

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2015), o Brasil possuía em 2015 o maior rebanho de equinos da

América Latina e o terceiro maior rebanho mundial. Os equídeos (equinos, muares e asininos) constituíam 8 milhões de cabeças, movimentando cerca de R\$ 7,3 bilhões, somente com a produção de cavalos. O rebanho envolvia mais de 30 segmentos, distribuídos entre insumos, criação e destinação final; base do Complexo do Agronegócio Cavalo, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos. Quanto à exportação de equinos vivos, os números eram significativos: a expansão alcançou 524% entre 1997 e 2009, passando de US\$ 702,8 mil para US\$ 4,4 milhões (BRASIL, 2015).

A maior população brasileira de equinos em 2015, localizava-se na região Sudeste, em seguida nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Norte. O Nordeste, além de equinos, concentra expressivo registro de asininos e muares. Os números oficiais mostram que em 2012 o país exportou 2.375,9 toneladas de carne de equídeos, sendo o oitavo maior exportador mundial; o país possuía mercados abertos para Japão, Hong Kong, Vietnã e para países da União Europeia como Bélgica, Holanda, Itália e França dentre outros (BRASIL, 2015).

No Brasil existem três plantas frigoríficas fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Federal habilitadas para o abate de equídeos e, que realizam a exportação de seus produtos. Duas plantas são autorizadas a realizar o abate misto de equídeos e de bovinos; uma planta é autorizada a abater especificamente equídeos. Elas estão localizadas nos estados de Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul. O abate compreende em média até 100 animais por dia, sendo os mercados importadores prioritariamente a União Europeia, e países asiáticos como Hong Kong e Vietnã. Os estabelecimentos seguem legislação específica para manutenção da habilitação para estes países (BRASIL, 2015).

A comercialização de carne de equídeos no Brasil não é comum; sendo que a produção realizada por estes estabelecimentos, se restringe a carne não comestível destinada a empresas farmacêuticas, para o mercado interno. Outros coprodutos como farinha de carne e ossos e cerdas, são comercializados no país; já o couro é produto de exportação (BRASIL, 2015).

3. *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose

Os equídeos são um grupo animal que inclui os equinos, os asininos, os

muares e as zebras; são ungulados perissodáctilos com um só dedo funcional. Algumas das principais doenças que podem acometer esses animais são: a actinobacilose, a actinomicose, a anemia infecciosa equina, o berne, a bicheira, a carrapatose, a dermatofilose, as diarreias, a fotossensibilização, o garrotilho, a influenza equina, as diversas intoxicações, a laminita, o mormo, a papilomatose, a raiva, a rodococose equina, o tétano, e as verminoses equinas (Marcolongo-Pereira et. al., 2014). A toxoplasmose é uma doença que acomete animais de sangue quente, incluindo os equídeos.

O *Toxoplasma gondii* foi identificado pela primeira vez no roedor africano *Ctenodactylus gundi* (Nicolle & Manceaux, 1908), e por Splendore (1908) em coelhos no Brasil. Posteriormente (Nicolle & Manceaux, 1909) foi descrito o gênero *Toxoplasma*, sendo sua única espécie o *T. gondii*. O *Toxoplasma gondii* são parasitos intracelulares obrigatórios, e a classificação taxonômica proposta por Adl e colaboradores (2012) e Filo: Apicomplexa (Levine, 1970); Classe: Conoidasida (Levine, 1988); Subclasse: Coccidia (Leuckart, 1879); Ordem: Eucoccidiorida (Leukart, 1879); Subordem: Eimeriorina (Leger, 1911); Família: Sarcocystidae (Poche, 1913); Gênero: *Toxoplasma* (Nicolle e Manceaux, 1909); Espécie: *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909).

Howe & Sibley (1995) propuseram a existência de três linhagens clonais do *T. gondii* (I, II e III). Estudos filogenéticos mais recentes subdividem o *T. gondii* em dois grandes grupos clonais. O grupo II seria geneticamente heterogêneo e a linhagem tipo III seria apenas um subgrupo desse grupo 2. As cepas de *T. gondii* classificadas como tipo I estão normalmente associadas a casos de toxoplasmose aguda; as cepas do tipo II são encontradas predominante em pacientes imunossuprimidos e em casos de toxoplasmose congênita e ocular em humanos, as cepas do tipo III são mais comumente encontradas em animais (AJZENBERG et. al., 2002).

O *T. gondii* apresenta três formas infectantes: os taquizoítas, os bradizoítas e os esporozoítas (SOUZA et al., 2010). Os taquizoítas são encontrados nos fluidos corpóreos dos hospedeiros intermediários, tais como o sangue, linfa, líquido amniótico e leite, caracterizando a fase aguda da infecção (JACOBS, 1974; AMENDOEIRA et al., 1999). Estes reproduzem-se de forma rápida e assexuadamente. Os bradizoítas são encontrados no interior de cistos teciduais localizados, preferencialmente, nas musculaturas esquelética e cardíaca e nos tecidos nervoso e ocular (AMENDOEIRA et al., 1999; ROBERT-

GANGNEUX & DARDÉ, 2012). Os bradizoítas, assim como os taquizoítas, apresentam formato arqueado e reproduzem-se assexuadamente; porém de forma lenta, no interior de cistos, caracterizando assim, a fase crônica da infecção nos hospedeiros intermediários (JACOBS, 1974; AMENDOEIRA et al., 1999). Já os esporozoítas encontram-se no interior de oocistos esporulados no meio ambiente. Estes oocistos são estruturas arredondadas e eliminadas pelas fezes dos felinos ainda não infectantes (não esporulados) e, no ambiente, adquirem caráter infeccioso (AMENDOEIRA et al., 1999; DUBEY, 2009).

As vias de transmissão podem variar de acordo com hábitos culturais e alimentares, além de fatores ambientais (DEMAR et al., 2007). Humanos susceptíveis podem se infectar com *T. gondii* por ingestão de bradizoítos presentes em carne e produtos de origem animal, crus ou malcozidos (MAGALDI et al., 1967; BONAMETTI et al., 1997), ingestão de oocistos esporulados ao contato com fezes de felinos domésticos, por ingestão de água (BOWIE et al., 1997; BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003), vegetais e frutas contaminadas (AVELINO et al., 2004). Ainda por contato com solo contaminado com esta forma evolutiva de *T. gondii* (COUTINHO et al., 1983); por taquizoítos transmitidos via transplacentária, por transplante de órgãos ou por transfusão sanguínea (JONES et al., 2003; MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

Fêmeas humanas ou de outros animais que adquirem a primo-infecção durante a gestação, passam a ter a possibilidade de transmissão do *T. gondii* ao homem e aos outros animais por meio dos taquizoítos transplacentariamente (AMENDOEIRA et al., 1999). Em grande parte dos animais, inclusive na espécie humana, apesar da infecção transplacentária poder ser desenvolvida em qualquer estágio da gestação, o feto é mais severamente afetado quando a fêmea prenhe se infecta durante a primeira metade da gestação (DUBEY, 1994; HILLE & DUBEY, 2002). No homem, apenas um baixo percentual de infecções com *T. gondii* são adquiridas verticalmente, com incidências de infecção pré-natal variando de 1 a 120 para cada 10.000 nascimentos, dependendo da localização geográfica e da população estudada (TENTER et al., 2000).

O parasita infecta a placenta e posteriormente o feto, podendo levar desde a morte fetal até a apresentação de lesões como calcificações cerebrais, hidrocefalia e retinocoroidite (HILL; DUBEY, 2002; MOMBRO et al., 2003; PEDREIRA et al., 2001; SPALDING et al., 2003). A transmissão congênita é

importante, tanto do ponto de vista de saúde humana quanto de saúde animal. Tanto em mamíferos como em humanos podem ser observados os mesmos quadros clínicos (HILL; DUBEY, 2002).

Outras vias de transmissão do *T. gondii* têm sido discutidas e, apesar de apresentarem menor importância na epidemiologia da toxoplasmose, não devem ser negligenciadas. Podem-se citar como exemplos, a transmissão através da transfusão de sangue e de componentes sanguíneos (WENDEL, 1995) e transplantes de órgãos (ROSE et al., 1983). A transmissão do parasita através da picada de insetos propriamente dita ainda não foi elucidada. Os artrópodes (moscas e baratas), assim como anelídeos (minhocas) podem servir de carreadores mecânicos de oocistos, podendo contaminar alimentos que serão consumidos pelo homem; bem como as chuvas e os ventos podem carrear estas estruturas para outros locais (AMENDOEIRA, 1995).

De acordo com DUBEY et al. (2005), a proporção da população humana que adquire a infecção pela ingestão de oocistos presentes no ambiente, ou pela ingestão de carne contendo cistos ou taquizoítos é desconhecida; sendo ainda inexistente um teste viável que possa determinar a fonte de infecção para cada indivíduo. O manuseio de carnes cruas por donas de casa e magarefes nos matadouros-frigoríficos tem sido descrito como um fator de risco de aquisição da infecção (AMENDOEIRA, 1995; DAGUER et al., 2004; ISHIZUKA, 1978; MILLAR et al., 2007; SOUZA, 1995).

4. Ciclo Biológico do *T. gondii*

O ciclo de vida do *T. gondii* ocorre em hospedeiros intermediários e nos hospedeiros definitivos. Existe uma fase intestinal e sexuada, e outra extra-intestinal e assexuada. Os felídeos são os hospedeiros definitivos do parasita e, a fase sexuada do seu ciclo de vida ocorre no epitélio intestinal destes animais (MONTOYA & LIESENFELD, 2004). A forma de infecção mais comum e importante para os felídeos é a predação; desta forma ingerem cistos de bradizoítas presente nos tecidos de suas presas. No intestino delgado dos felídeos, os bradizoítas invadem os enterócitos e iniciam o processo de esquizogonia; posteriormente originam os merozoítas, que levam ao rompimento da célula hospedeira, liberando-os na luz intestinal para que possam penetrar em outros enterócitos, realizando novamente o processo de esquizogonia (DUBEY, 1998).

Os merozoítas, no interior dos enterócitos dos felídeos modificam-se em gametócitos femininos (macrogametas) e masculinos (microgametas). Após a fecundação o zigoto recém-formado, secreta uma parede cística, originando o oocisto não esporulado. Com o desenvolvimento e crescimento do oocisto, o enterócito se rompe, liberando esta estrutura parasitária no lúmen intestinal do felídeo; que o eliminará junto às fezes, contaminando o ambiente (HILL et al., 2005).

O oocisto esporulado, agora infectante, contamina o ambiente, assim como alimentos e água destinados ao consumo humano e animal. Após infectar um hospedeiro intermediário, inicia-se a fase extra-intestinal; ocorre a multiplicação do parasito que atinge a circulação, sob a forma de taquizoíta, disseminando-se pelo organismo. O *T. gondii* então, penetra na célula hospedeira e, no interior do vacúolo parasitóforo, multiplica-se assexuadamente por um processo de endodiogenia, no qual uma célula-mãe origina duas células filhas que a destroem (DUBEY et al., 1998; AMENDOEIRA et al., 1999).

Os taquizoítas liberados na circulação, multiplicam-se rapidamente e caracterizam a fase aguda da infecção toxoplásmtica; são capazes de infectar quaisquer células nucleadas do organismo do hospedeiro intermediário. Uma ou duas semanas após a infecção, os níveis séricos de anticorpos específicos anti-*T. gondii* aumentam, induzindo a formação de cistos teciduais, embora esta fase do ciclo do parasito seja totalmente natural e independente da resposta imunológica do hospedeiro. No interior do cisto, o parasito, sob a forma de bradizoíta, multiplica-se lentamente, também por endodiogenia, caracterizando a fase crônica da infecção (DUBEY et al., 1998).

5. Epidemiologia

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial. O ciclo biológico do parasita é composto por múltiplas vias e fontes de infecção. Fatores epidemiológicos variam de acordo com a localização geográfica e com hábitos culturais, alimentares e de higiene de uma dada população (DUBEY et al., 1998). Em 1996 a prevalência de *T. gondii* estava estimada em um a dois bilhões de pessoas, sendo que até 50% da população mundial já poderia ter tido algum tipo de contato com esse parasita (CHANG, 1996). Entretanto, a

frequência da infecção é variável nas diferentes regiões do planeta.

Estimou-se que em 2002 nos Estados Unidos, 26 a 40% da população estivesse infectada, enquanto que nas Américas Central e do Sul e na Europa as estimativas variavam entre 50 a 80% (HILL; DUBEY, 2002). Um estudo no estado do Ceará, Brasil, estimou uma soro positividade local para *T.gondii* na população de aproximadamente 40 a 80% (REY; RAMALHO, 1999). A variabilidade da frequência de infecção está ligada a fatores como: padrões culturais da população, hábitos alimentares, idade, zona rural ou urbana, dentre outros (AMENDOEIRA et al., 1999).

Os animais de abate são apontados como fonte de infecção para o homem. A manipulação de carcaças e vísceras nos matadouros-frigoríficos e açougues e em nível doméstico a ingestão de carne, vísceras e produtos cárneos crus ou malcozidos são importantes na transmissão da infecção quando os mesmos alojam cistos teciduais contendo bradizoítos (ISHIZUKA, 1978; ARIAS et al., 1994; AMENDOEIRA et al., 1999; DAGUER et al., 2004). Segundo Cook et al. (2000), o consumo de carne crua ou malcozida é um importante fator de risco para a infecção pelo *T. gondii*. O tipo de carne apontado com o maior risco varia de acordo com a situação de cada região, levando-se em conta a taxa de consumo e a soro prevalência em cada espécie animal estudada.

Os cistos teciduais podem ser encontrados na maioria dos órgãos, como pulmões, fígado e rins, porém situam-se preferencialmente no cérebro, nas musculaturas esquelética e cardíaca e nos olhos (DUBEY et al., 1998). A localização e o número de cistos teciduais diferem com o hospedeiro e com a cepa de *T. gondii*. Apesar de camundongos e ratos, mais cistos serem observados no tecido nervoso do que nas vísceras, em outros mamíferos (bovinos, suínos, gatos, ovelhas, cabras) essas estruturas são mais comuns no tecido muscular (DUBEY, 1997a; DUBEY et al., 1998).

Quando reativados, principalmente por imunossupressão, quimioterapia e outras infecções imunossuppressoras como a AIDS (AMENDOEIRA et al., 1999; HILL et al., 2005) os bradizoítas liberados podem multiplicar-se localmente ou se disseminar para outros órgãos (DUBEY, 1998). Segundo Dubey (1998) não se sabe se cistos primários podem originar novos cistos diretamente ou se necessitam passar pelo estágio de taquizoíta primeiro. Os taquizoítas, como dito anteriormente, são também responsáveis pelos casos de

infecção congênita, uma vez que adquirida a infecção toxoplásrica durante a gravidez, esta fase parasitária atravessa a placenta, atingindo o feto (AMENDOEIRA & CAMILLO-COURA, 2010). Caso não haja algum tipo de imunossupressão, os cistos podem persistir por toda a vida do hospedeiro, fazendo da carne destes uma potencial fonte de infecção para demais animais carnívoros (JACOBS, 1974; DUBEY, 1991; HILL et al., 2005).

Os cistos teciduais podem permanecer infectantes em carcaças refrigeradas de 1°C a 4°C por mais de três semanas e em peças congeladas entre -1°C e -8°C por mais de uma semana (DUBEY, 1988 et al., KOTULA et al., 1991). Já foi comprovado em condições experimentais que os cistos podem permanecer viáveis após aquecimento a 60°C por até 4 minutos, ou 50°C por até 10 minutos. Esses dados demonstram que alguns cistos podem resistir até mesmo ao processo de cozimento da carne, principalmente se este processo não ocorrer de modo uniforme, como acontece no aquecimento pelo micro-ondas (DUBEY et al., 1990; LUNDÉN ; UGGLA, 1992); desta forma o micro-ondas não é método confiável de cozimento para inabilitizar o *T. gondii*.

A técnica de irradiação utilizando 0,4-0,7 kGy ou a alta pressão hidrostática (300-400 MPa) conseguem inativar cistos teciduais de *T. gondii* em carne. No entanto, os efeitos destes dois métodos de conservação de alimentos alteram a cor e a textura da carne, ocorrendo aceitação limitada pelo consumidor (DUBEY et al., 2010; KIJLSTRA; JONGERT, 2008). Dependendo da concentração de sal e temperatura de estocagem, o processamento por cura de alguns produtos cárneos pode inabilitizar os cistos. Em condições laboratoriais, os cistos foram mortos quando tratados em solução de 6% de NaCl em temperaturas que variavam entre 4°C a 20°C, mas resistiram por diversas semanas em soluções de 0,85%, 2,0% e 3,3% de sal nas mesmas temperaturas (DUBEY, 1997b).

O Departamento de Agricultura dos EUA recomenda cozinhar cortes inteiros de carne de porco, cordeiro e gado a 62,8 °C ou mais, e aves devem ser cozidas a 73,9 °C ou mais, sendo que a medida deve ser feita com um termômetro de alimento colocado na parte mais espessa da carne, com um tempo de descanso de 3 minutos após o término do cozimento (USDA, 2011). Essas recomendações podem ser estendidas para a carne de equídeos. No entanto, sob condições experimentais, cistos de *T. gondii* podem permanecer viáveis mesmo após o cozimento de carnes a 64°C, com um descanso de 3

minutos de modo que, o melhor é cozinhar cortes inteiros de carne de porco, cordeiro, e gado a no mínimo 65,6 °C com um descanso de 3 minutos (DUBEY, 1990).

6. Toxoplasmose em equídeos

Os equídeos estão dentre as espécies domésticas mais resistentes à infecção por *T. gondii*, dificilmente apresentando sintomatologia clínica (DUBEY & DESMONTES, 1987). Inquéritos sorológicos indicam que a ocorrência de anticorpos em equinos é baixa (AL-KHALIDI & DUBEY, 1979). Embora resistentes à infecção, os equinos podem apresentar doença clínica. Além de consistir em fonte de infecção para o ser humano, a carne equina pode veicular o parasita para felinos e demais carnívoros cativos (AL-KHALIDI & DUBEY, 1979).

Assim como os equinos, os asininos também se mostram resistentes à esta infecção parasitária (MENDONÇA et al., 2001). O consumo da carne e do leite asinino tem aumentado em função de suas propriedades nutricionais vantajosas em relação às carnes vermelhas e ao leite bovino, respectivamente (ALI et al., 2014). Embora ainda haja pouca informação sobre o papel dos asininos na epidemiologia da toxoplasmose, a ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* nesta espécie faz da carne desses animais uma possível fonte de infecção (MACHACOVA et al., 2014). Villalobos et al., (2010) analisaram 85 amostras de soro de jumentos em São Paulo e estimou que 9,4% dos animais apresentavam anticorpos anti- *T. gondii* à RIFI, concluindo haver à circulação deste agente nos jumentos da região estudada. Os estudos de Mancianti et al., (2014) e Martini et al., (2014) denunciam a presença de DNA de *T. gondii* no sangue e leite cru de asininos naturalmente infectados. Ambos os trabalhos apenas sugerem a possibilidade de transmissão por meio do consumo do leite cru, uma vez que não foi comprovada a capacidade infectante das amostras positivas (MANCIANTI et al., 2014; MARTINI et al., 2014).

Camossi et al., (2010) analisou 253 amostras de soro de equinos na cidade de Botucatu, São Paulo, com positividade de 5,9% pela RIFI e 12,6% positivas pela Aglutinação Direta Modificada (MAD). Rizzo (2011) investigou no Brasil por meio da RIFI anticorpos anti *T. gondii* em soros de 398 equídeos e, buscou isolar o parasita do cérebro dos animais em matadouros frigoríficos

brasileiros através do bioensaio em camundongos. Por meio da RIFI 46 (11,6%) equídeos foram soropositivos; pelo bioensaio em camundongos 14 (3,5%) cérebros foram positivos. Utilizou-se a PCR-RFLP com base em 18S rDNA para diferenciar entre *T. gondii*, *Neospora caninum*, e *Sarcocystis neurona* os 14 cérebros positivos. Duas amostras foram positivas apenas para *T. gondii*; foi feita a genotipagem o que mostrou ser o *T. gondii* tipo I para todas as amostras; uma variante característica da América Latina.

Oliveira (2014) concluiu haver a presença do *T. gondii* distribuído por todo o município de Uberlândia, Minas Gerais. As 257 amostras de soro de equídeos foram avaliados para anticorpos anti- *T. gondii* e contra *Neospora spp.* por meio da RIFI e Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Foram encontrados 9,7% de amostras positivas ao *T. gondii* à RIFI e 10,9% positivas na PCR. Dubey et al., (1999a) encontrou 6,9% positivos em 1788 soros de equinos nos EUA.

Silva (2005) testou 150 soros de cavalos, por meio da técnica de Hemaglutinação Indireta em 15 fazendas de gado do Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Apenas 1,33% das amostras foram positivas para anticorpos anti- *T. gondii*, sendo que os cavalos positivos eram oriundos de duas propriedades onde os animais viviam perto da casa do proprietário. Também utilizando a HAI foram encontrados por Chabra e Gautam (1980) 11,8% de positivos em 603 amostras de equinos no norte na Índia, 37,1% em 70 soros de equinos na Nigéria (Aganga et al., 1983), e 27,1% na China em 108 amostras (Miao et al., 2013).

Alvarado-Esquivel et al. (2015) em estudo realizado em Durango no México analisaram amostras de soro sanguíneo de 239 burros domésticos (*Equus asinus*), destinados para abate usando a metodologia da aglutinação modificada (MAT). Foram observados anticorpos contra *T. gondii* em 26 animais (10,9%) de 239 asnos, e em três (75%) dos quatro locais de procedência dos animais pesquisados. Este foi primeiro achado de infecção por *T. gondii* em burros no México; um país onde relata-se o abate não inspecionado de equídeos para o consumo humano, apontando para o risco do consumo de carne malcozida, ou crua de equídeos infectados com *T. gondii*. No México, outro trabalho utilizando a MAT encontrou 6,1% de positivos em 495 equinos (Alvarado-Esquivel et al., 2012).

Na cidade de Mosul no Iraque, Alshahery e Mansour (2012) estudaram a

presença de anticorpos anti *T. gondii* em soros de 79 equinos, 70 fêmeas e 9 machos, usando as metodologias do teste de aglutinação em látex (LAT) e do teste de 2-mercaptoetanol (2-ME). Os resultados detectaram anticorpos para *T. gondii* utilizando LAT em 72,2% dos animais (71,4% fêmeas e 77,8% machos), enquanto 57% dos animais (57,1% fêmeas e 55,6% machos) ao teste do 2-ME foram positivos.

García-Bocanegra et al., (2012) estudaram amostras de soro de 616 equídeos (454 cavalos, 80 mulas e 82 asnos) através de um estudo transversal de 420 rebanhos na Andaluzia, reportada como a região com maior número de equídeos na Espanha. Os resultados mostraram anticorpos contra *T. gondii* em 10,8% cavalos, 15% das mulas e 25,6% dos burros por meio do teste de aglutinação modificada (MAT) em um corte de 1:25. Em relação aos rebanhos estudados a soroprevalência para cavalos foi de 14,7% (48/327), para as mulas de 23,9% (11/46) e para os burros de 34,0% (16/47). Em 75 rebanhos (17,8%) foi observado pelo menos um animal soropositivo. Houve diferenças significativas para prevalência de *T. gondii* entre as espécies, com burros que apresentaram a maior soro prevalência e cavalos a mais baixa ($P = 0,04$). A soro prevalência foi significativamente maior em rebanhos onde os animais estudados tinham a presença de ruminantes domésticos. O estudo foi caracterizado como o primeiro relato da presença de anticorpos do *T. gondii* na espécie equina na Espanha e o primeiro relato da infecção por *T. gondii* em burros na Europa.

Dubey et al., (2014) estudaram nos Estados Unidos amostras de 373 equídeos de oito fazendas em cinco estados para anticorpos contra *T. gondii* pela aglutinação modificada (MAT). Os resultados mostraram 24 das 373 (6,4%) amostras soropositivas. A prevalência de soro positividade foi de 7% em jumentas (20/282) e 4,1% em jumentos (4/91). Os gatos domésticos estavam presentes em seis das oito fazendas estudadas. A genotipagem de DNA extraído de cultura de taquizoítos nos gatos presentes nas propriedades, usando polimorfismo do fragmento 10 de PCR (RFLP) com marcadores (SAG1, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, PK1, L358 e APICO loci) revelou que os isolados eram do Tipo II.

Elbez-Rubinstein et. al. (2009) relataram um caso de toxoplasmose congênita disseminada em um recém-nascido de uma mãe que tinha sido imunizada contra *T. gondii* antes da gravidez. A mãe havia sido previamente

infectada com *T. gondii*, e durante a gravidez foi novamente infectada, provavelmente pela ingestão durante a gestação de carne de cavalo importada; já que é tradição o consumo de carne de cavalo crua ou malcozida para que mulheres grávidas, tenham uma prole saudável. O caso foi relatado como uma apresentação clínica excepcional na França; a estirpe responsável foi isolada a partir do sangue periférico do recém-nascido, e quando genotipados com marcadores microssatélites; ele exibiu um genótipo atípico, que é muito raro na Europa, mas havia sido descrito na América do Sul. O estudo também testou a hipótese de uma reinfecção com um genótipo diferente, usando um modelo experimental de rato, que confirmou que a imunidade adquirida contra as cepas de *Toxoplasma Europeia* (Tipo II) não protege contra a reinfecção quando esta é causado por cepas atípicas daquelas encontradas no continente europeu.

7. Toxoplasmose em animais de produção

Ovinos, caprinos e suíños são animais potencialmente mais susceptíveis ao parasita. Do ponto de vista médico e de saúde pública, os suíños tem merecido especial atenção dos epidemiologistas, por ser um importante reservatório e fonte de infecção à população humana. Isto se deve ao fato de ser frequentemente consumido em vários países e apresentar longevidade dos cistos teciduais estimada em 171 dias (DUBEY et al., 1984).

Os bovinos são a espécie doméstica menos relevante na cadeia de transmissão da toxoplasmose. Apresentam resistência natural à infecção por *T. gondii* e esta, quando ocorre, geralmente não leva a sintomatologia clínica (DUBEY, 2005). Os suíños são considerados uma das maiores fontes de infecção da toxoplasmose para o ser humano. Estes animais podem se contaminar pela ingestão de oocistos do ambiente contaminado, consumo de resto de roedores, aves e outros animais silvestres e a transmissão congênita. A frequência de infecção está relacionada a presença de felinos nas granjas suinícolas, tipo de criação, manejo e faixa etária do plantel (HILL & DUBEY, 2013).

As aves domésticas, em especial as galinhas, possuem relevância na epidemiologia da toxoplasmose; pois servem de fonte de infecção para os felinos. As galinhas geralmente são resistentes a sintomatologia clínica da toxoplasmose, sendo assim importantes vias de disseminação do parasita. Esses animais também pelo hábito de ciscar são excelentes bioindicadores de

contaminação ambiental (DUBEY, 2010). Ovinos e caprinos são comumente expostos ao parasita, pela ingestão de oocistos presentes nas pastagens; e são espécies domésticas sensíveis à infecção toxoplásmtica. Podem ocorrer perdas reprodutivas referentes a abortos, natimortalidade e fetos mumificados. Em adultos a sintomatologia se apresenta em febre, encefalite, necrose de tecidos, entre outros (DUBEY, 2004).

8. Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser clínico, laboratorial ou epidemiológico. O diagnóstico clínico é incomum quando se trata da toxoplasmose adquirida, pois esta, em 90% dos casos apresenta-se assintomática ou, se for sintomática, pode apresentar sinais e sintomas que podem ser confundidos com uma série de outros processos infecciosos. Para que se tenha uma maior confiabilidade no diagnóstico e exatidão da infecção por *T. gondii*, é indispensável o uso de técnicas laboratoriais padronizadas para a sua confirmação (AMENDOEIRA et al., 1999).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose tem como base a detecção do parasita por meio da inoculação em animais, ensaios de cultivos, exames histológicos, celulares, pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e, principalmente, por meio de testes sorológicos que detectem os anticorpos específicos imunoglobulina M (IgM) imunoglobulina G (IgG) e menos frequentemente, imunoglobulina A (IgA) (D'AGOSTINO, 1994).

A toxoplasmose pode ser diagnosticada através da pesquisa de anticorpos contra o parasita. Na fase aguda da infecção por *T. gondii*, primeiro ocorre a produção de IgM, seguida da produção de IgG, que perdura durante a infecção crônica e a esta pode levar a produção de IgA (CANTOS et al., 2000; MONTOYA, 2002). Segundo D'agostino (1994), os testes sorológicos podem ser divididos em dois grupos, relacionados com o antígeno que será utilizado: o primeiro utiliza o micro-organismo intacto (*Dye-teste* e Reação de Imunofluorescência Indireta) e o segundo, emprega proteínas provenientes do rompimento do parasita (ELISA, fixação de complemento e hemaglutinação indireta).

O *Dye-test*, também conhecido como reação de Sabin-Feldman, é considerado bastante usual para o diagnóstico da toxoplasmose tanto na fase aguda como na fase crônica. Além de possuir alta especificidade e

sensibilidade, não cruza com outras infecções. Mas, por necessitar de fatores acessórios e parasitas vivos, tornou-se obsoleta, pois tornaram-se fatores limitantes para seu uso (AMENDOEIRA et al., 1999).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) baseia-se na evidenciação de anticorpos por soro anti-globulina humana conjugado à fluoresceína, do qual se obtém a coloração da membrana do parasita, a partir do título 1:16 (AMENDOEIRA et al., 1999). Segundo Fialho e Araújo (2002), a RIFI é um teste sensível e específico, de fácil realização. Por meio dessa técnica, os anticorpos IgM podem ser dosados de uma a duas semanas depois do início da infecção, alcançando o pico em seis a oito semanas, quando então há o seu declínio sendo que títulos baixos podem persistir por 12 meses. Os anticorpos IgG aparecem tarde, e seus níveis desaparecem gradualmente; persistindo, com baixos títulos, por longo tempo de vida do hospedeiro, podendo até mesmo persistir por toda a vida na maioria dos pacientes.

No *Enzime Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), o marcador da reação imunológica é uma molécula de enzima, ligada seja ao antígeno, seja ao anticorpo, mas capaz de tornar visível diretamente à formação do complexo imune por proporcionar, na segunda fase do processo, uma reação colorida que indica se o teste foi positivo ou negativo. O teste é bastante objetivo, extremamente sensível e adaptável tanto ao simples exame visual como a diversos sistemas de detecção fotométricos, com substratos coloridos, luminescentes e fluorescentes (REY, 2001).

O teste de fixação de complemento necessita de padronização, e sua sensibilidade e especificidade estão diretamente ligadas ao preparo do antígeno. Os anticorpos determinados por este método aparecem mais tarde que os detectados pela RIFI e *Dye-test*, tornando-se negativos dois anos após a infecção (D'AGOSTINO, 1994).

O teste da hemaglutinação indireta (HAI) é uma técnica de simples execução, de rápido resultado e de baixo custo (FIALHO e ARAÚJO, 2002). Consiste na fixação de抗ígenos provenientes do rompimento do taquizoíto (utilizando hemácias como suporte). A reação entre estes com soro e anticorpos específicos produz a aglutinação visível. Devido à presença predominante de抗ígenos citoplasmáticos, não é um teste útil na infecção aguda podendo produzir reações falsas negativas em casos de infecções

congênitas (D'AGOSTINO, 1994).

9. Profilaxia

Para o controle e profilaxia da toxoplasmose, é necessário o conhecimento das fontes de infecção, formas de transmissão, suas características biológicas e epidemiológicas. Em humanos, são necessários cuidados como: a lavagem das mãos com água e sabão após o manuseio de carnes ou produtos cárneos crus, assim como a lavagem de materiais como facas e outros utensílios que tenham contato com esses produtos (HILL & DUBEY, 2002).

Outras medidas podem ser tomadas para evitar a contaminação da carne contendo cistos; apesar de serem ainda inespecíficos os métodos viáveis que possam levar ao consumidor um produto seguro quanto à contaminação pelo *T. gondii*. É necessário um planejamento da saúde animal na origem da cadeia de produção, e da conscientização dos produtores sobre as formas de controle desta enfermidade. Secundariamente, uma condição básica para controle deste protozoário, é a correta aplicação dos métodos empregados para a destruição dos cistos do *T. gondii* em produtos cárneos e derivados: defumação, congelamento, salga, fritura, entre outros (MILLAR et al., 2008a).

As crianças que brincam em tanques de areia ou em contato com o solo, podem se contaminar; já que estes podem estar contaminados com fezes de gatos com toxoplasmose. Os tanques para recreação das crianças devem ser cobertos ou cercados para evitar o contato com gatos (HILL & DUBEY, 2002). Mulheres grávidas devem usar luvas quando estiverem trabalhando em jardins, lavar legumes, frutas e verduras, afim de se evitar contato com fezes de felídeos que possam estar infectados com o *Toxoplasma*. Deve-se minimizar a ingestão de água de lagos, poços e rios que não seja tratada, bem como o não acesso de gatos a estas fontes de água (DUBEY, 2004).

Aos gatos domésticos deve-se evitar alimentá-los com alimentos crus ou malcozidos; preferindo-se o uso de ração, enlatados ou alimentos cozidos. Os locais que os gatos defecam devem ser limpos rotineiramente, com o auxílio de luvas, não sendo realizada por gestantes ou imunodeprimidos. Em animais de produção, deve-se impedir a presença de gatos, minimizando-se a eliminação de oocistos no ambiente. Em alguns países como Nova Zelândia e Reino Unido

para a prevenção de abortos em ovinos e caprinos é utilizada a vacinação dos animais (DUBEY, 2004).

8. Referências

ADL, S. M., SIMPSON, A. G. B., LANE, C. E., LUKES, J., BASS, D., BOWSER, S. S., BROWN, M. W., BURKI, F., DUNTHORN, M., HAMPL, V., HEISS, A., HOPPENRATH, M., LARA, E., GALL, L. L., LYNN, D. H., MAMANUS, H., MITCHELL, E. A. D., MOZLEY-STANRIDGE, S. E., PARFREY, L. W., PAWLOWSKI, J., RUECKERT, S., SHADWICK, L., SCHOCHE, C. L., SMIRNOV, A. & SPIEGEL, F. W. The revised classification of eukaryotes. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. 59: 429–493, 2012.

AGANGA, A. O.; KWANASHIE, G.; BELINO, E. D. Toxoplasma antibodies in polo horses of Nigeria. **International Journal of Zoonoses**, v. 10. p. 155-158, 1983.

AJZENBERG, D.; BAÑULS, A-L.; TIBAYRENC, M.; DARDÉ, M. L. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups. **International Journal of Parasitology**, v. 32, p. 27-38, 2002.

ALI, M.; BABER, M.; HUSSAIN, T.; AWAN, F.; NADEEM, A. The contribution of donkeys to human health. **Equine Veterinary Journal**. 46, n. 6, p.766-767, 2014.

AL-KHALIDI, N. W.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in horses. **Journal of Parasitology**, v. 65, n. 2, 331-334, 1979.

ALSHAHERY, M. N.; MANSOUR, R. S. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in Mosul, Iraq. **Iraqian Journal of Veterinary Sciences**, v. 26, p. 39-41, 2012.

ALVARADO-ESQUIVEL C.; RODRÍGUEZ-PEÑA S.; VILLENA I.; DUBEY J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic horses in Durango State, Mexico. **Journal of Parasitology**. v. 98, n. 5, p. 944-945, 2012.

ALVARADO-ESQUIVEL, C.; ALVARADO-ESQUIVEL, D.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic donkeys (*Equus asinus*) in Durango, Mexico slaughtered for human consumption. **BMC Veterinary Research**, v. 11, p. 6, 2015.

AMENDOEIRA, M. R. R.; COSTA, T.; SPALDING, S. M. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. **Revista Souza Marques**, v. 1, n. 1, p. 15-29, 1999.

AMENDOEIRA, M.R.R.; CAMILLO-COURA, L.F. Uma breve revisão sobre toxoplasmose na gestação. **Scientia Medica (Porto Alegre)**, v. 20, n. 1, p. 113-119, 2010.

ARIAS, M. L.; REYES, L.; CHINCHILLA, M.; LINDER, E. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in meat producing animals in Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, San José, v .42,n.1/2, p.15-20, 1994.

AVELINO M. M.; CAMPOS-JÚNIOR D.; PARADA J.B.; CASTRO A. M. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age. **Brazilian Journal of Infectious Disease**, v. 8, n. 2, p.164-74, 2004.

BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; JONES J.L.; AZEVEDO-SILVA J.; ALVES C.C.F.; ORÉFICE F.; ADDISS D.G. Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro state, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v.9, n.1, p. 55-62, 2003.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Manual Saunders: **Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 1998. 2072p.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; KOGA DA SILVA, E. M.; MACEDO, Z. S. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast feeding. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 43, n. 2, p.116, 1997.

BOWIE, W. R.; KING, A. S.; WERKER, D.H.; ISAAC-RENTON, J.L.; BELL A. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. **Lancet**, v. 350, n. 9072: p. 173-177, 1997.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Equídeos**. [2015?]. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>. Acesso em: 30 de outubro de 2015.

CAMOSSI, L. G.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Serological survey of toxoplasmosis in horses from Botucatu region, SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n 2, 2010.

CANTOS, G. A.; PRANDO, M. D.; SIQUEIRA, M. V.; TEIXEIRA, R. M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-toxoplasma *gondii* e diagnóstico. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, p. 335-341, 2000.

CHANG, H. R. The potential role of azithromycin in the treatment or prophylaxis of toxoplasmosis. **International Journal of STD and AIDS**, United Kingdom: Wallace Dinsmore, v. 7, n. 1, p.18-22.1996.

CHHABRA, M. B.; GAUTAM, O.P. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in equids in north India. **Equine Veterinarian Journal**, v.12, p. 146 -148. 1980.

COOK, A. J.; GILBERT, R. E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P. A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A. E.; DUNN, D. T. Sources of Toxoplasma infection in pregnant women: European multicenter case-control study. **British Medical Journal**, v. 321, n. 7254, p. 142–147, 2000.

COUTINHO, S. G., LOBO R.; DUTRA G. Isolation of Toxoplasma from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 68, n. 5, p.866-8, 1982.

COUTINHO S.G.; GARCIA A.P.; AMENDOEIRA M.R.R.; ASSUMPÇÃO M.R.; ALBANO N. Detection of newborn infants at risk for congenital toxoplasmosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 25, p. 25–30, 1983.

D'AGOSTINO, L. E. Diagnóstico serológico de toxoplasmose: actualización. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**. Buenos Aires, v. 28, n. 3, p. 399-403, 1994.

DAGUER, H.; VICENTE, R. T.; COSTA, T.; VIRMOND, M. P.; HAMANN, W.; AMENDOEIRA, M. R. R. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p.1133-1137, 2004.

DEMAR, M.; D. AJZENBERG; D. MAUBON; F. DJOSSOU; D. PANCHOE; W. PUNWASI; N. VALERY; C. PENEAU; J. L. DAIGRE; C. AZNAR; B. COTTRELLE; L. TERZAN; M. L. DARDÉ; B. CARME. Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: epidemiological, clinical, and parasitological aspects. **Clinical of Infectious Disease**, v. 45, n. 7, p.88-95, 2007.

DUBEY, J.P.; MURREL, K.D.; FAYER, R. Persistence of encysted *T. gondii* in tissues of pigs fed oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, p. 1941-1943, 1984.

DUBEY, J.P.; DESMONTS, G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal**, v.19, n. 4, p. 337-339, 1987.

DUBEY, J. P.; KOTULA, A. W.; SHARAR, A.; ANDREWS, C. D.; LINDSAY, D. S. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **Journal of Parasitology**, v. 76, p. 201–204, 1990.

DUBEY, J. P. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 259-262, 1990.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – an overview. **Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health**, v. 22, Suppl., p. 88-92, 1991.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 205, p. 1593–1598, 1994.

DUBEY, J.P. Tissue cyst tropism in *Toxoplasma gondii*: a comparison of tissue cyst formation in organs of cats and rodents fed oocysts. **Parasitology**, v. 115, p.15-20, 1997a.

DUBEY, J. P. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85–6% NaCl solutions at 4–20°C. **Journal of Parasitology**, v. 83, p. 946–949, 1997b.

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 Microbiological Review**, v. 11, p. 267–299, 1998.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; GAMBLE, H. R. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 235–238, 1999.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; GAMBLE, H. R. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 235–238, 1999.

DUBEY, J. P., D. H. GRAHAM, C. R. BLACKSTON, T. LEHMANN, S. M. GENNARI, A. M A. RAGOZO, S. M. NISHI, S. K. SHEN, O. C H. KWOK, D. E. HILL, AND P. THULLIEZ. Biological and genetic characterization

of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: Unexpected findings. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 99–105, 2002.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J.P.; HILL, D.E.; HIGHTOWE, A.W.; KIRKLAND, E.; ROBERTS, J.M. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. **Journal of Parasitology**, v.91, n.5, p. 1082-1093, 2005.

DUBEY, J. P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n.8, p. 877-882, 2009.

DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, n. 1, 60-73, 2010.

DUBEY JP. **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2. ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2010. 336 p.

DUBEY, J.P.; NESS, S.L.; KWOK, O.C.; CHOUDHARY, S.; MITTEL, L.D.; DIVERS, T.J. Seropositivity of *Toxoplasma gondii* in domestic donkeys (*Equus asinus*) and isolation of *T. gondii* from farm cats. **Veterinary Parasitology**, v. 199, p. 18-23, 2014.

ELBEZ-RUBINSTEIN, A.; AJZENBERG, D.; DARDÉ, M. L.; COHEN, R.; DUMÈTRE, A.; YEAR, H.; GONDON, E.; JANAUD, J. C.; THULLIEZ, P. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. **Journal of Infectious Diseases**, v. 199, p. 280–285, 2009.

FIALHO, C. G.; ARAÚJO, F. A. P. Comparação entre os testes de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 30, n. 3, p. 185-189, 2002.

GARCÍA-BOCANEGRA, I.; CABEZÓN, O.; ARENAS-MONTES, A.; CARBONERO, A.; DUBEY, J. P.; PEREA, A.; ALMERÍA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. **Parasitology International**, v. 61, p. 421-424, 2012.

HILL, D.E.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 8, n. 10, p. 634-640, 2002.

HILL, D.E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J.P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**. 6(1): 41-61, 2005.

HILL, D.E.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p.107-113, 2013.

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

IBGE. **Produção da pecuária municipal**. 2014. Disponível em: http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf. Acesso em 17 maio 2016.

ISHIZUKA, M. M. Avaliação da frequência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta (anti-IgG), em magarefes. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.15, n.2, p.155-158, 1978.

JACOBS, L. *Toxoplasma gondii*: parasitology and transmission. **Bulletin of The New York Academy of Medicine**. 50(2): 128-145, 1974.

JONES, J., A. LOPEZ, WILSON, M. Congenital toxoplasmosis. **American Farm Physician**, v. 67, n.10, p. 2131-2138, 2003.

KIJLSTRA, A.; JONGERT, E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. **International Journal of Parasitology**, v. 38, p. 1359-1370, 2008.

KOTULA, A. W.; DUBEY, J. P.; SHARAR, A. K.; ANDREWS, C. D.; SHEN, S. K.; LINDSAY, D. S. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **Journal of Food Protection**, v. 54, p. 687-690, 1991.

LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **International Journal of Food Microbiology**, v.15, p. 357-363, 1992.

MACHACOVA, T.; BARTOVA, E.; DI LORIA, A.; SEDLAK, K.; MARIANI, U.; FUSCO, G.; FULGIONE, D.; VENEZIANO, V.; DUBEY, J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in donkeys (*Equus asinus*) in Italy. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 2, p. 265-267, 2014.

MAGALDI C, ELKIS H, PATTOLI D, DE QUEIRÓZ JC, COSCINA AL, FERREIRA JM. Surto de toxoplasmose em um seminário de Bragança Paulista (Estado de São Paulo): aspectos clínicos, sorológicos e epidemiológicos. **Revista Saúde Pública**. v. 1, p.141–171, 1967.

MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; PAPINI, R.; MUGNAINI, L.; MARTINI, M.; ALTOMONTE, I.; SALARI, F.; D'ASCENZI, C.; DUBEY, J.P. Detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* DNA in the blood and milk of naturally infected donkeys (*Equus asinus*). **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-3, 2014.

MARTINI, M.; ALTOMONTE, I.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; MUGNAINI, L.; SALARI, F. A preliminar study on the quality and safety of milk in donkeys positive for *Toxoplasma gondii*. **Animal**, v. 8, n. 12, p. 1996-1998, 2014.

MARCOLONGO-PEREIRA, C.; ESTIMA-SILVA, P.; SOARES, M. P.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B.; RAFFI, M. B.; FERNANDES, C. G.; SCHILD, A. L. Doenças de equinos na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 205-210, 2014.

MENDONÇA, A.O.; CERQUEIRA, E.J.L.; ARAUJO, W.N.; MORAES-SILVA, E.; SHIMABUKURO, F.H.; SARKIS, D.T.; SHERLOCK, I.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p 115-118, julho/dezembro, 2001.

MIAO, Q.; WANG, X.; SHE, L.; FAN, Y.; YUAN, F.; YANG, J.; ZHU, X.; ZOU, F. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. **Parasites & Vectors**, v. 6, p. 168, 2013.

MILLAR, P. R.; DAGUER, H.; VICENTE, R. T.; COSTA, T.; CARLI, A. L.; SOBREIRO, L. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em trabalhadores de um matadouro de suínos e em indivíduos com outras atividades na cidade de Palmas, Paraná. **Ciência Rural**, v. 37, n.1, p.292-295, 2007.

MILLAR, P.R.; SOBREIRO, L.G.; BONNA, I.C.F.; AMENDOEIRA, M.R.R. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 693-706, 2008a.

MILLAR, P. R; DAGUER, H.; VICENTE, R. T., COSTA T.; SOBREIRO, L. G.; AMENDOEIRA. M. R. R. *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região sudoeste do Estado do Paraná. Revista. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 15-18, 2008b.

MOMBRO, M.; PERATHONER, C.; LEONE, A.; BUTTAFUOCO, V.; ZOTTI, C.; LIEVRE, M.A.; FABRIS, C. Congenital toxoplasmosis: assessment of risk to newborns in confirmed and uncertain maternal infection. **European Journal of Pediatrics**, v. 162, p.703-706, 2003.

MONTOYA, J.G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and Toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 185 (suppl.1), p. S73-S82, 2002.

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

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

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur un protozoaire nouveau du gondi: *Toxoplasma N. Gen. Masson*. 1909.

OLIVEIRA, P. M. Prevalência de *T. gondii* e *Neospora spp.* e análise dos fatores de risco em equídeos do sudeste do Brasil. Uberlândia, 2014. 76f. **Dissertação (Clínica Médica e Investigação Etiológica)**. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

PEDREIRA, D.A.L.; CAMARGO, M.E.; LESER, P.G. Toxoplasmosis: will the time ever come? **Ultrassonography, Obstetrics and Gynecology**, v.17, p.459-63, 2001.

REY, L. C.; RAMALHO, I. L. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.41, n.3, p.171-174, 1999.

RIZZO, F. E. Zoonoses de Interesse em Saúde Pública em Equídeos de Abate. Londrina, 2011. 58f. **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)**. Universidade Estadual de Londrina. 2011.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 2, p. 264-296, 2012.

ROSE, A.G.; UYS, C.J.; NOVITSKY, D.; COOPER, D.; BARNARD, C.N. Toxoplasmosis of donor and recipient hearts after heterotopic cardiac transplantation. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 107, p.368-373, 1983.

SILVA, R. A. M. S. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses from pantanal, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**. v. 12, n. 1/ 2, p. 20-24, 2005.

SOUZA, W. J. S. Epidemiologia da toxoplasmose: avaliação sorológica de suínos e trabalhadores em abatedouros na mesorregião do Grande Rio de Janeiro. Itaguaí, 1995. 102f. **Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária)**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.

SOUZA, W.; MARTINS-DUARTE, E. S.; LEMGRUBER, L.; ATTIAS, M.; VOMMARE, R.C. Organização estrutural do taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 20, n. 1, p 131-143, 2010.

SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M.R.R.; Ribeiro, L.C.; SILVEIRA, C.; GARCIA, A.P.; CAMILLO-COURA L. Prospective study of pregnants and babies with risk of congenital toxoplasmosis in municipal district of Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.4, p.483-91, 2003.

SPLENDORE, A. Un nuovo protozoa parassita deconigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uoma. Nota preliminare pel. **Revista Sociedade Ciência**, São Paulo, v. 3, p.109-112, 1908.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12, p. 1217-1258, 2000.

USDA. USDA revises recommended cooking temperature for all whole cuts of meat, including pork, to 145°F. **FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE**.

May 24, 2011. Disponível em:
http://www.fsis.usda.gov/News_&_Events/NR_052411_01/_index.asp. Acesso em 17 de maio de 2014.

VILLALOBOS, E.M.C.; MARQUES, E.C.; CUNHA, M.S.; CUNHA, E.M.S.; NASSAR, A.F.C.; FELICIO, P.S.; MORI, E.; OLIVEIRA, J.V.; LARA, M.C.C.S.H. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e *Neospora spp.* em asininos (*Equus asinus*) criados na região de colina, São Paulo, Brasil. **23ª Reunião Anual do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.103-170, 2010.

WENDEL, S. Current concepts on transmission of bacteria and parasites by blood components. **Journal of Medicine of São Paulo**, v. 113, p. 1036-1052, 1995.

CAPÍTULO 2 - OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA gondii* EM EQUÍDEOS ABATIDOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL EM MATADOURO FRIGORÍFICO NO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL.

Wellington A. de Freitas¹, Igor F. Arruda², Patricia R. Millar^{2,3}, Maria Regina R. Amendoeira³, Kênia de F. Carrijo⁴.

ABSTRACT. Freitas W.A., Arruda I.F., Millar P. R., Amendoeira M. R. & Carrijo K.F. [Occurrence of Anti-*toxoplasma gondii* Antibodies in Equidae Slaughtered Under Federal Inspection Service in the State of Minas Gerais, Brazil.] Ocorrência de anticorpos anti-*toxoplasma gondii* em equídeos abatidos sob serviço de inspeção federal em matadouro frigorífico no estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 00(0):00-00, 1900. Programa de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, R. Ceará, S/N - Umuarama, Uberlândia - MG, 38400-902, Brasil. E-mail: wellingonalves.freitas@live.com

Toxoplasmosis is a zoonosis of global distribution, which affects homeothermic animals, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*. Transmission may occur through the ingestion of muscle tissue containing cysts from the parasite; through the ingestion of oocysts eliminated in cat feces by intermediate hosts, or congenital, transplacental transmission. Equidae can link the protozoan to the human population by consuming raw meat or undercooked, or the intake of the milk of asininos. Brazil is one of the largest exporters of equidae in the world, with only three of the slaughterhouses in the country being exported; and gradually the milk of donkeys and used as an alternative of consumption by the population to the bovine milk. The objective of this study was to investigate IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* in 400 equine serum (208 asinines and 192 horses), slaughtered in a slaughterhouse under the Federal Inspection Sanitary Service (FIS); Through the technique of Indirect Immunofluorescence (IFR). It was observed 13.5% of samples positive for specific anti-*T. gondii* IgG antibodies from the total equidae. The positive equines were 18.75% and the asininos 8.65%. Statistically, there was a positive association for the presence of cats in the property and for the water source of the creek and stream animal, or only the river. Gender and power source did not influence the results for any species. The state of Goiás presented 9% of reactive animals, in relation to the total of samples analyzed, representing the highest frequency per state. The association ($p < 0.05$) between the equine positivity and the results found was verified.

INDEX TERMS: asininos, equines, serology, *Toxoplasma gondii*.

¹Recebido em ...

Aceito para publicação em ...

²Médico Veterinário. Mestrando, Programa de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará, S/N, Umuarama, Uberlândia, MG 38400-902, Brasil. E-mail para correspondência: wellingonalves.freitas@live.com

³Laboratório de Parasitologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil Filho 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-34, Brazil.

⁴Laboratório de Toxoplasmose e outros Protozoonoses (LabTOXO), Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Avenida Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil.

⁵Médica Veterinária. DSc, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará, Bloco 2D, sala 29, Uberlândia, MG 38400-902. E-mail: kenia.carrijo@ufu.br.

RESUMO. A toxoplasmosse é uma zoonose de distribuição mundial que acomete animais homeotérmicos, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. A transmissão pode ocorrer através da ingestão de tecido muscular contendo cistos do parasita; através da ingestão de oocistos eliminados nas fezes de gatos por hospedeiros intermediários, ou ainda a transmissão congênita, transplacentária. Os equídeos podem vincular o protozoário para a população humana, mediante consumo de carne crua ou malcozida, ou a ingestão do leite de asininos. O Brasil é um dos maiores exportadores de carne equídea do mundo, sendo apenas três os frigoríficos no país habilitados à

exportação; e gradativamente o leite de jumentas é utilizado como alternativa de consumo pela população ao leite bovino. O estudo teve como objetivo pesquisar anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii* em 400 soros de equídeos (208 asininos e 192 equinos), abatidos em matadouro frigorífico sob fiscalização do Serviço de Inspeção Sanitária Federal (SIF); através da técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Foi observado 13,5% de amostras positivas para anticorpos específicos IgG anti - *T. gondii* do total de equídeos. Os equinos positivos foram 18,75% e os asininos 8,65%. Estatisticamente houve associação positiva para a presença de gatos na propriedade e, para fonte de água dos animais riacho e ribeirão, ou somente ribeirão. Gênero e fonte de alimentação não influenciaram os resultados para nenhuma espécie. O estado de Goiás apresentou 9% de animais reagentes, em relação ao total de amostras analisadas, representando a maior frequência por estado. Foi verificada associação ($p<0,05$) entre a positividade da espécie equina com os resultados encontrados.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: asininos, equinos, sorologia, *Toxoplasma gondii*.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose amplamente distribuída no mundo. Seu agente etiológico, *Toxoplasma gondii*, é um coccídeo heteroxeno facultativo que pode parasitar todos os animais homeotérmicos (TENTER et al., 2000). Na cadeia epidemiológica desta infecção os felídeos se apresentam como hospedeiros definitivos, sendo responsáveis pela eliminação do parasita nas fezes e, consequentemente, pela contaminação ambiental (JACOBS, 1974). Mamíferos, incluindo o homem e o próprio gato doméstico, além das aves, atuam nesta cadeia epidemiológica como hospedeiros intermediários (TENTER et al., 2000; ROBERT-GANGNEUX & DARDÉ, 2012). O Brasil está entre os primeiros países do mundo em número de equídeos, apresentando uma população, no ano de 2014 de aproximadamente 5,45 milhões de equinos e 950 mil asininos, usados em diversas atividades como o transporte, montaria, agricultura, esportes e auxílio a tratamento médico (IBGE, 2014).

A transmissão da doença pode ocorrer através da ingestão de tecido muscular contendo cistos do parasita, seja pela ingestão por hospedeiros definitivos e intermediários de carne crua ou malcozida; ou através da ingestão de presas caçadas, sendo esta a fonte de infecção primária em gatos. Outra forma, pode ser através da ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos infectantes; oocistos estes que são eliminados nas fezes de felinos e que, no ambiente, sob condições ideais, se tornam esporulados, sendo que estes podem ser transportados por baratas, moscas e minhocas. E por fim, a transmissão congênita, transplacentária, que pode causar abortos ou o nascimento de natimortos (BIRCHARD; SHERDING, 1998).

Uma das vias de detecção à exposição ao parasita é através da identificação de anticorpos circulantes no soro sanguíneo dos animais. Os equídeos estão dentre as espécies domésticas mais resistentes à infecção por *T. gondii*, dificilmente apresentando sintomatologia clínica (DUBEY & DESMONTS, 1987). Embora resistentes à infecção, os equinos podem manifestar sintomas clínicos como incoordenação motora dos membros, aborto e irritabilidade excessiva (BEECH & DODD, 1974; MACRUZ et al., 1975; NASCIUTTI et al., 2014). Assim é importante a avaliação de risco para a toxoplasmose em equídeos abatidos sob inspeção sanitária oficial, cuja carne é destinada à alimentação humana.

Os números oficiais mostram que em 2012 o país exportou 2.375,9 toneladas de carne de equídeos, sendo o oitavo maior exportador mundial; o país possuía mercados abertos para Japão, Hong Kong, Vietnam e para países da União Europeia como Bélgica, Holanda, Itália e França dentre outros (BRASIL, 2015). No Brasil existem três plantas sob fiscalização do Serviço de Inspeção Sanitária Federal habilitadas para o abate de equídeos e que realizam a exportação de seus produtos. Duas plantas são autorizadas a realizar o abate misto de equídeos e de bovinos; uma planta é autorizada a abater especificamente equídeos. Elas estão localizadas nos estados de Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul. O abate comprehende em média até 100 animais por dia, sendo os mercados importadores prioritariamente a União Europeia, e países asiáticos como Hong Kong e Vietnã. Os estabelecimentos seguem legislação com requisitos específicos para manutenção da habilitação para estes países (BRASIL, 2015).

Humanos podem assumir o risco de infecção, quando do consumo de carne malcozida ou crua de equídeos (DUBEY et al., 2002). Recentes relatos de toxoplasmose adquirida e congênita vem sendo notificados em países onde se têm o hábito de consumir a carne equina (ELBEZ-RUBINSTEIN et al., 2009; POMARES et al., 2011). Além de consistir em fonte de infecção para o ser humano, esta carne pode veicular o parasito para felinos e demais animais carnívoros cativos

(SILVA et al., 2001). A soro prevalência da infecção por *T. gondii*, em animais, é um importante dado epidemiológico no controle desse parasita, a fim de se obter mais informações da importância desses animais na transmissão da toxoplasmose.

Embora ainda haja pouca informação sobre o papel dos asininos na epidemiologia da toxoplasmose, a ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* nesta espécie faz da carne desses animais uma possível fonte de infecção (MACHACOVA et al., 2014). Alguns trabalhos sugerem a possibilidade de transmissão por meio do consumo do leite asinino cru, uma vez que não foi comprovada a capacidade infectante das amostras onde foi detectado DNA do parasito (MANCIANTI et al., 2014; MARTINI et al., 2014).

O estudo objetivou avaliar a soro prevalência de anticorpos anti *T. gondii* em amostras de equídeos abatidos sob Serviço de Inspeção Sanitária Federal no Brasil e correlaciona-los com variáveis epidemiológicas obtidas através de questionário investigativo. Além disso, avaliou-se a influência da espécie, procedência, fonte de água, presença de gatos, gênero, e fonte de alimentação com a presença de anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii*. Desta forma os dados epidemiológicos referentes a estas espécies, podem contribuir para as políticas públicas de saúde; por meio do esclarecimento do papel desses animais como fontes de infecção para o ser humano por meio de sua carne e/ou leite.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas na calha de sangria em matadouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal, amostras de sangue de 400 equídeos, sendo 192 equinos (habilitados à exportação para União Europeia) e 208 asininos (habilitados a exportação para mercados da Lista Geral). Machos e fêmeas de diferentes idades, considerados aptos para o abate pelo Médico-Veterinário do Serviço de Inspeção, após o exame *ante mortem*. Os animais eram procedentes dos estados da Bahia, Goiás e Piauí. Aproximadamente 8 mL de sangue foram coletados em frascos próprios, sem anticoagulante, numerados; sendo depois deixados em repouso, à temperatura ambiente, para que ocorresse a retração do coágulo.

O material foi centrifugado (Centrífuga Excelsia Baby®) a 6000 rpm por 3 min, para a separação do soro. As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis do tipo “eppendorf”, identificadas e estocadas a -20°C em freezer. Posteriormente estes foram enviados via correio para a realização das análises laboratoriais no Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto Biomédico, na Universidade Federal Fluminense e no Laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses (LabTOXO) do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) para a reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

Para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* utilizou-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), de acordo com a técnica descrita por Camargo (1964), usando-se as diluições de 1:64 e 1:256 com ponto de corte estipulado de 1:64. Os proprietários das fazendas e/ou responsáveis técnicos das propriedades fornecedoras de equídeos para abate responderam a um questionário epidemiológico (Apêndice), que contemplava as variáveis como: idade, gênero, linhagem, procedência dos animais, criação em conjunto, tamanho das propriedades de origem, dieta dos animais, contato com gatos e ratos, finalidade dos animais, sistema de criação, origem da água de abastecimento da propriedade e vermiculação. Para este trabalho foram elencadas algumas destas variáveis, aleatoriamente, para análise estatística.

Para a associação entre as variáveis de espécie, sexo, procedência, foi utilizado o teste de proporções para duas amostras. O programa Action Stat® em Microsoft Excel 2010 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos. As frequências de soropositivos e as associações entre as variáveis foram estimadas com nível de significância de $p < 0,05$. Este trabalho teve a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais / Núcleo de Animais de Laboratório (CEUA/NAL) da Universidade Federal Fluminense, sob o registro nº 320/13, em 21 de fevereiro de 2013.

RESULTADOS

Das 400 amostras de equídeos submetidas à RIFI, 52% eram referentes à asininos e 48% a equinos. Considerando ambas as espécies, foi observada uma ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* de 13,5% (54/400) nos soros. Para o teste da RIFI, das 192 amostras de equinos testadas, 36 (18,75%) foram positivas e 156 (81,25%) negativas. Das 208 amostras de asininos testadas, 18 (8,65%) foram positivas e 190 (91,35%) negativas. Observou-se diferença estatística em relação a espécie ($p=0,0034$), podendo-se afirmar que para equinos houve influência positiva da espécie para os animais reagentes à RIFI. Observou-se que os equinos possuem 2,43 vezes mais chances de apresentar resultados positivos frente a este teste em relação aos asininos (Tabela 1).

A tabela 2 mostra os municípios que apresentaram as maiores ocorrências de anticorpos anti- *T. gondii* a RIFI. Observou-se a soro prevalência de 28,57% em Caiapônia, 26,23% em Cachoeira Alta, 14,81% em Cumari, e 12,16% em Curimatã; para as cidades de Serra Dourada e Xique – Xique não houve animais reativos. Estatisticamente foi significativa a influência da procedência dos animais em relação à soro positividade ($p < 0,0001$), sendo que os animais oriundos do município de Caiapônia apresentaram a maior chance de soro positividade (1.12 vezes a mais), em relação aos demais municípios. Em relação ao gênero, não foi observada associação estatisticamente significativa ($p = 0,1880$) quando este foi comparado aos resultados positivos (Tabela 3). Na população asinina estudada, o número de machos foi menor do que o de fêmeas, 37% e 63%, respectivamente. Já na espécie equina, a população de machos (59,4%), foi superior à de fêmeas (40,6%).

Todos os asininos utilizados no presente estudo eram provenientes de estabelecimentos cujos responsáveis relataram a presença de felinos. Já na população de equinos, 42,9% do total eram provenientes de estabelecimentos com a presença de felinos. Ao correlacionar, de um modo geral, a positividade sorológica com a presença de gatos nas propriedades, a ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* em equídeos foi de 10,38% sendo esta uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,0051$). Em relação aos animais que eram provenientes de estabelecimentos que relataram a presença de felinos, foi observada uma razão de chances de ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* de 0,4199 vezes a menos do que em animais de propriedades sem gatos (Tabela 4).

Considerando à alimentação (tabela 5), todos os asininos e 91,1% dos equinos somente pastavam, os restantes 8,9% dos equinos, além de pastar, também eram alimentados com ração. A ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* foi observada em 49 equídeos que somente pastavam e em 5 equídeos que, além da pastagem, eram alimentados com ração, não revelando associação estatisticamente significativa ($p = 0,0642$).

As fontes de água mais observadas dentre os equinos foram ribeirão (31,7%) e riacho (31,3%), seguidos da soma destas duas fontes (14,5%), poço (11,5%) e poço e riacho (11,0%). Já os asininos tinham como fonte de água açude e poço (36,5%), poço, açude e cisterna (34,6%) e riacho e poço (28,9%). As fontes de água que mais apresentaram animais sororreagentes foram o riacho e ribeirão (28,57%), ribeirão (26,23%) e poço, açude e cisterna (12,50%), sendo esta uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,0020$). Foi verificado que animais que ingeriam água proveniente de riacho e ribeirão, ou somente ribeirão apresentaram maior chance de apresentarem anticorpos anti- *T. gondii*, 2,978 e 2,647 vezes a mais, respectivamente (Tabela 6).

DISCUSSÃO

O resultado encontrado de 13,5% para ocorrência da infecção toxoplasmica na população de equídeos amostrada, é próximo ao observado em estudos realizados com a RIFI no Brasil: 10,4% (MOURA et al., 2016), 11,6% (EVERS et al., 2012), 12,82% (NAVES et al., 2005). Similarmente García-Bocanegra et al. (2012) estudando populações de equídeos na região sul da Espanha, obtiveram uma positividade de 13,3 % dos animais; através do teste de aglutinação modificado (*Modified Agglutination Test – MAT*). Em outros países, achados obtidos pelas técnicas do *Dye Test*, MAT e RIFI, variaram de 10% a 17,6% em equinos ou asininos (AL-KHALIDI & DUBEY, 1979; DUBEY et al., 1999a; ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2015; PAPINI et al., 2015).

Outros trabalhos encontraram valores de soro positividade divergentes da presente pesquisa: 5,9% (CAMOSSI et al., 2010), 7,8% (OLIVEIRA FILHO et al., 2012), 9,7% (OLIVEIRA et al., 2014). Estudos realizados na Europa e nos Estados Unidos, a ocorrência não ultrapassou os 8%, quando utilizados a RIFI e o MAT (DUBEY et al., 1999b; MACHACOVA et al., 2014; DUBEY et al., 2014). Resultados superiores foram relatados no Brasil e países como China e Romênia, empregando-se as técnicas de RIFI, MAT e ELISA, variando de 19,9% a 43,2% (VIDOTTO et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2013; YANG et al., 2013; PASTIU et al., 2015; RIBEIRO et al., 2016; GENNARI et al., 2015).

A disparidade dos resultados encontrados na literatura se deve as diferentes técnicas sorológicas empregadas, assim como sua interpretação e ponto de corte estabelecido, população de animais estudada, condições geográficas, contato com felinos e condições de manejo, dificultando uma comparação entre os estudos (CAMOSSI et al., 2010; GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2012; PAPINI et al., 2015). Oliveira Filho et al. (2012) ressaltam a não existência de uma técnica padrão ouro para o diagnóstico da infecção toxoplasmica em equídeos.

Muitos estudos utilizam o MAT para o diagnóstico em equinos e asininos (DUBEY et al., 1999a; DUBEY et al., 2014; PASTIU et al., 2015; ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2015). Contudo, Langoni et al. (2007) constataram grande concordância entre a RIFI e o MAT ao pesquisarem

anticorpos para *T. gondii* no soro de equinos. Assim como em nosso estudo, a utilização da RIFI, com ponto de corte de 1:64, tem sido empregada (EVERS et al., 2012; GENNARI et al., 2015) no diagnóstico para os equídeos; pois apresenta maior concordância com os resultados obtidos pelo MAT, diminui os resultados falso-positivos e o risco de reação cruzada com outros coccídeos, como *Hammondia hammondi*.

Em relação à espécie, foi observada a maior ocorrência da infecção toxoplasmica em equinos (18,75%) do que em asininos (8,65%), sendo estatisticamente significativa. Em contraponto, García-Bocanegra et al. (2012) e Gennari et al. (2015) observaram uma ocorrência de 25,6% e 48,38%, estatisticamente significativa, em asininos e muares. No presente estudo, um dos fatores que pode ter decorrido a uma maior ocorrência em equinos pode ser a variedade de municípios de procedência destes animais (4 municípios) em comparação aos asininos (2 municípios), o que poderia ter aumentado a chance do encontro de localidades com maior potencial de contaminação ambiental. Outro fator que pode ter influenciado a maior ocorrência em equinos foi a utilização de conjugado específico para cavalos.

Além disso, as características geográficas específicas destes municípios podem favorecer a circulação do parasito entre os hospedeiros. Vidotto et al. (1997) observaram uma menor ocorrência do *T. gondii* em equinos oriundos dos estados de São Paulo (21,9%) e Mato Grosso do Sul (30%) em comparação com os dos estados do Paraná (41,22%) e do Mato Grosso (46,75%). Mendonça et al. (2001) não observaram diferença estatística significativa em relação às duas regiões do estado da Bahia de onde procederam os equídeos analisados, assim como García-Bocanegra et al. (2012), que não observaram associação entre a soro positividade dos animais e suas províncias de origem no sul da Espanha. Neste estudo não foi observada a ocorrência da infecção toxoplasmica em equídeos (asininos e equinos) oriundos dos municípios do estado da Bahia, sendo o estado de Goiás o que apresentou a maior chance de ocorrência de anticorpos específicos para o parasito (O.R. 1.125 - Caiapônia).

O ambiente é fator importante para explicar a epidemiologia da toxoplasmose em equídeos, já que relativamente aos equídeos destinados ao abate, de fato a matança destes animais ocorre como forma de aproveitamento das espécies, sendo estes de descarte; o que pode indicar um manejo não tão apropriado quanto para os demais animais de produção. Sendo assim, fazendas tecnificadas, que dispõem de melhores práticas de higiene e defesa sanitária, seriam capazes de impedir a instalação de determinadas doenças em equídeos, dentre estas, a infecção toxoplasmica.

O gênero dos equídeos não influenciou estatisticamente a soro positividade, assim como o observado em outros estudos (MENDONÇA et al., 2001; CAMOSSI et al., 2010; MOURA et al., 2016; LOPES et al., 2013; MIAO et al., 2013; e FINGER et al., 2013). Em contrapartida Oliveira et al. (2014) e Hardy et al. (2009) consideraram-no como um fator predisponente, sendo as fêmeas mais sensíveis a infecção pelo parasita do que os machos, possivelmente devido a fatores hormonais.

No presente estudo foi maior a ocorrência de anticorpos anti- *T. gondii* em animais criados em estabelecimentos cujos proprietários não relataram a presença de felinos. Contudo, todos os asininos e 42,9% dos equinos tinham contato com gatos. Tal fato pode configurar um viés da pesquisa, se considerarmos: 1) a omissão da presença dos felinos na propriedade pelos proprietários ou; 2) a circulação de felinos de propriedades circunvizinhas ou felinos silvestres sem o conhecimento dos mesmos.

O contato com felinos, em especial o gato doméstico, é um dos principais fatores de risco para a aquisição da infecção pelo *T. gondii* para animais herbívoros (VIDOTTO et al., 1997; OLIVEIRA FILHO et al., 2012). A eliminação de oocistos nas fezes dos felinos pode garantir a contaminação da pastagem e da água destinada ao consumo destes animais (MACHACOVA et al., 2014). Moura et al. (2016) e Oliveira Filho et al. (2012) não observaram relação entre a presença de felinos e a positividade sorológica para *T. gondii* em equídeos. Yang et al. (2013) observaram uma maior chance de infecção em equídeos criados extensivamente, o que aumentaria a sua chance de exposição ao parasito. Já Ribeiro et al. (2016) assinalam que a proximidade com a fauna silvestre favorece a infecção dos equinos.

A associação entre presença de anticorpos anti- *T. gondii* e o tipo de alimentação não foi estatisticamente significativo. Contudo, foi observada uma maior ocorrência em animais que pastavam e que comiam ração. Entretanto, o total de animais incluídos nesta dieta foi baixo ($n = 17$), justificando a alta ocorrência. Além disso, todos os asininos e mais de 90% dos equinos somente pastavam, sendo assim o pasto pode estar atuando nestas populações como fonte de infecção. A introdução da ração na dieta destes equinos é incomum ao considerar que tais animais eram de descarte; podendo ser explicada como uma forma de suplemento já praticada aos animais rotineiramente, antes da opção pelo abate.

Quanto à fonte de água, com exceção do poço; as demais fontes destinadas para o consumo dos animais estudados, apresentaram amostras soropositivas para *T. gondii*. Os equídeos que a ingeriam de fontes de água corrente (riacho e ribeirão, e riacho) apresentaram maior ocorrência. Oliveira Filho et al. (2012) constataram que as fontes de água corrente destinadas para o consumo de equídeos da Bahia eram um fator de risco para a infecção. Deste modo, assumindo a associação estatisticamente significativa entre a soro positividade e a fonte de água observada neste estudo, ressalta-se novamente a presença dos felinos como agentes dispersores do *T. gondii* no ambiente. Ao realizar o bioensaio em camundongos, Dubey et al. (2014) isolaram parasitos viáveis do coração de dois dos três gatos capturados em fazendas de criação de asininos nos Estados Unidos, onde foi observada uma ocorrência de 6,4% nos herbívoros.

Os resultados encontrados, apontam para a necessidade de estudos em relação a água de abastecimento desses animais, pois estas podem estar atuando como possível fonte de infecção para o *T. gondii* para os equídeos. Nesse sentido devem ser considerados o curso dos riachos e ribeirões, assim como escoamento das águas pluviais da região que podem carrear oocistos presentes no solo, contaminando tais fontes hídricas.

Equídeos são resistentes à sintomatologia e não são diagnosticados na linha de abate, sinalizando um problema de saúde coletiva (GENNARI et al., 2015). Vidotto et al. (1997) e Yang et al. (2013) afirmam que a carne de equídeos, quando consumida crua ou malcozida, pode representar um risco para a saúde humana, veiculando o *T. gondii* para a população que as consome. Assim como a carne, o leite asinino vem sendo cada vez mais consumido, em certas localidades, pela população alérgica ao leite bovino, fazendo desta uma potencial fonte de transmissão do parasito (DUBEY et al., 2014).

Considerando que a infecção por *T. gondii* nos equídeos tem como principal rota de transmissão a ingestão do oocisto é plausível suspeitar da qualidade da pastagem e da água destinada para o consumo dos animais analisados. Tal fato somado às práticas de manejo inadequadas para animais destinados ao abate para a produção de carne, faz do achado deste estudo um alerta para os criadores e proprietários de rebanhos de equídeos, assim como para a população com o hábito de consumir carne e leite destes animais.

CONCLUSÕES

Os resultados apontam para o risco da infecção humana a partir do consumo da carne equídea. A infecção toxoplasmica está amplamente distribuída nos rebanhos de equídeos analisados. As fontes de água destinadas para o consumo dos animais, assim como as pastagens, podem estar atuando como fontes de infecção para as populações equídeas analisadas.

Agradecimentos. Este trabalho teve apoio do Serviço de Inspeção Federal, da Universidade Federal de Uberlândia, da Fundação Oswaldo Cruz e da Universidade Federal Fluminense.

REFERÊNCIAS

- AL-KHALIDI, N.W.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in horses. *Journal of Parasitology*. 65(2): 331-334, 1979.
- ALVARADO-ESQUIVEL, C.; ALVARADO-ESQUIVEL, D.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic donkeys (*Equus asinus*) in Durango, Mexico slaughtered for human consumption. *BMC Veterinary Research*. 11(6): 1-4, 2015.
- BEECH, J.; DODD, D.C. *Toxoplasma*-like encephalomyelitis in the horse. *Veterinary Pathology Online*. 11(1): 87-96-1974.
- BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. *Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, 2072, 1998.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Equídeos*. [2015?]. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>. Acesso em: 30 de outubro de 2015.
- CAMARGO, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 6: 117-118, 1964.
- CAMOSSI, L.G.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmosse em equinos na região de Botucatu-SP. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 6(2), 484-488, 2010.
- DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; GAMBLE, H.R. Serologic

- prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology.** 86(4): 235-238, 1999a.
- DUBEY, J.P.; VENTURINI, M.C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology.** 86(1): 59-62, 1999b.
- DUBEY, J. P., D. H. GRAHAM, C. R. BLACKSTON, T. LEHMANN, S. M. GENNARI, A. M A. RAGOZO, S. M. NISHI, S. K. SHEN, O. C H. KWOK, D. E. HILL, AND P. THULLIEZ. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: Unexpected findings. **International Journal for Parasitology** 32: 99-105, 2002.
- DUBEY, J.P.; DESMONTS, G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal.** 19(4): 337-339, 1987.
- DUBEY, J.P.; NESS, S.L.; KWOK, O.C.H.; CHOUDHARY, S.; MITTEL, L.D.; DIVERS, T.J. Seropositivity of *Toxoplasma gondii* in domestic donkeys (*Equus asinus*) and isolation of *T. gondii* from farm cats. **Veterinary Parasitology.** 199(1): 18-23, 2014.
- ELBEZ-RUBINSTEIN, A.; AJZENBERG, D.; DARDÉ, M.L.; COHEN, R.; DUMÉTRE, A.; YERA, H.; GONDON, E.; JANAUD, J.C.; THULLIEZ, P. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. **The Journal of Infectious Diseases.** 199(2): 280-285, 2009.
- EVERS, F.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; FREITAS, J.C.; BONESI, G.L.; BENITEZ, A.N.; NINO, B.S.L.; EWALD, M.P.C.; TARODA, A.; ALMEIDA, J.C.; PAGLIARI, S.; FREIRE, R.L. Zoonosis of public health interest in slaughtered brazilian equidae. **Seminario: Ciências Agrárias, Londrina.** 33(supl. 2): 3223-3232, 2012.
- FINGER, M.A., VILLALOBOS, E.M.C., LARA, M.C.C.S.H., CUNHA, E.M.S., BARROS-FILHO, I.R., DECONTI, I., DORNBUSCH, P.T., ULLMANN, L.S., BIONDO, A.W., Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in carthorses in the metropolitan region of Curitiba, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.** v.22, n.1, p.179-181, 2013.
- GARCIA-BOCANEGRA, I.; CABEZÓN, O.; ARENAS-MONTES, A.; CARBONERO, A.; DUBEY, J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. **Parasitology International.** 61(3): 421-424, 2012.
- GENNARI, S. M., ESMERINI, P. O., LOPEZ, M. G., SOARES, H. S., VITALIANO, S. N., CABRAL, A. D., PENA, H. F. J., HORTA, M. C., CAVALCANTE, P. H., FORTES, K. P., VILLALOBOS, E. M. C. Occurrence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and its isolation and genotyping in donkeys, mules, and horses in Brazil. **Veterinary Parasitology.** 209: 129-132, 2015.
- HARIDY, F. M.; SHOUKRY, N. M.; HASSAN, A. A.; MORSY, T. A. ELISA- seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in draught horses in Greater Cairo, Egypt. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology.** V. 39, n. 3, p. 821-826, 2009.
- IBGE. **Produção da pecuária municipal.** 2014. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf>. Acesso em: 17 Maio, 2016.
- JACOBS, L. *Toxoplasma gondii*: parasitology and transmission. **Bulletin of The New York Academy of Medicine.** 50(2): 128-145, 1974.
- LANGONI, H.; SILVA, A.V.; PEZERICO, S.B.; LIMA, V.Y. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo.** 44(1): 27-32, 2007.
- LOPES, A. P.; SOUSA, S.; DUBEY, J. P.; RIBEIRO, A. J.; SILVESTRE, R.; COTOVIO, M.; SCHALLIG, D. F. H.; CARDOSO, L.; SILVA, A. C. Prevalence of antibodies to *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* in horses from the north of Portugal. **Parasitologia veterinária.** v.6, n.1, p.178, 2013.
- MACHACOVA, T.; BARTOVA, E.; DI LORIA, A.; SEDLAK, K.; MARIANI, U.; FUSCO, G.; FULGIONE, D.; VENEZIANO, V.; DUBEY, J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in donkeys (*Equus asinus*) in Italy. **Journal of Veterinary Medical Science.** 76(2): 265-267, 2014.
- MACRUZ, R.; LENCI, O.; ISHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O.; CUNHA, R.A.F. Toxoplasmoses em equinos puro sangue inglês. Estudo sorológico. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.** 12(1): 277-282, 1975.
- MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; PAPINI, R.; MUGNAINI, L.; MARTINI, M.; ALTOMONTE, I.; SALARI, F.;

- D'ASCENZI, C.; DUBEY, J.P. Detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* DNA in the blood and milk of naturally infected donkeys (*Equus asinus*). **Parasites and Vectors.** 7(1): 1-3, 2014.
- MARTINI, M.; ALTOMONTE, I.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; MUGNAINI, L.; SALARI, F. A preliminar study on the quality and safety of milk in donkeys positive for *Toxoplasma gondii*. **Animal.** 8(12): 1996-1998, 2014
- MENDONÇA, A.O.; CERQUEIRA, E.J.L.; ARAUJO, W.N.; MORAES-SILVA, E.; SHIMABUKURO, F.H.; SARKIS, D.T.; SHERLOCK, I.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. **Seminário: Ciências Agrárias, Londrina.** 22(2): 115-118, julho/dezembro, 2001.
- MIAO, Q., WANG, X., SHE, L., FAN, Y., YUAN, F., YANG, J., ZHU, X., ZOU, F. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. **Parasites & Vectors,** 6: 168, 2013.
- MOURA, A. B., MATIELLO, J. P., SILVA, O. M., SOUZA, A. P., SARTOR, A. Antibodies against *Toxoplasma gondii* in horses from the coastal and mountain mesoregions of the state of Santa Catarina, Brazil. **Seminário: Ciências Agrárias,** 37, (1): 203-212, 2016.
- NASCIUTTI, N.R.; SANTOS, J.P.A.F.; OLIVEIRA, P.M.; ANJOS, C.; GARCIA, F.G.; MACÊDO JUNIOR, A.G. Incoordenação de membros posteriores em equinos associados à toxoplasmose – relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia.** 12(3): 77, 2014
- NAVES, C.S.; FERREIRA, F.A.; CARVALHO, F.S.R.; COSTA, G.H.N. Soroprevalência da toxoplasmose em equinos da raça Manglarga Marchador no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias, Uberlândia.** 11(1): 45-52, 2005.
- OLIVEIRA, P. M. Prevalência de *T. gondii* e *Neospora spp.* e análise dos fatores de risco em equídeos do sudeste do Brasil. **Dissertação de Mestrado.** Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2014. 76p. (Capturado em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/13101/1/PrevalenciaToxoplasmaGondii.pdf>).
- OLIVEIRA FILHO, R.B.; MALTA, K.C.; OLIVEIRA, J.M.B.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; MOTA, R.A.; SANTANA, V.L.A.; ALVES, L.C.; PINHEIRO JUNIOR, J.W. Situação epidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** 32(10): 995-1000, outubro, 2012.
- OLIVEIRA, E.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; SOUZA NETO, O.L.; FARIA, E.B.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in mules and donkeys in the Northeast of Brazil. **Journal of Parasitology.** 99(2): 343-345, 2013.
- PAPINI, R.A.; BUZZONE, G.; NARDONI, S.; ROCCHIGIANI, G.; MANCIANTI, F. Seroprevalence and genotyping of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for human consumption in Italy. **Journal of Equine Veterinary Science.** 35(8): 657-661, 2015.
- PASTIU, A.I.; GYORKE, A.; KALMÁR, Z.; BOLFÁ, P.; ROSENTHAL, B.M.; OLTEAN, M.; VILLENA, I.; SPÎNU, M.; COZMA, V. *Toxoplasma gondii* in horse meat intended for human consumption in Romania. **Veterinary Parasitology.** 212(3): 393-395, 2015.
- POMARES, C.; AJZENBERG, D.; BORNARD, L.; BERNARDIN, G.; HASSEINE, L.; DA RDÉ, M.L.; MARTY, P. Toxoplasmosis and horse meat, France. **Emerging Infectious Diseases.** 17(1): 1327-1328, july, 2011.
- RIBEIRO, M.J.M.; ROSA, M.H.F.; BRUHN, F.R.P.; GARCIA, A.M.; ROCHA, C.M.B.M.; GUIMARÃES, A.M. Seroepidemiology of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora sp.* among horses in the South of the state of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, Jaboticabal.** 25(2): 142-150, abril/junho, 2016.
- ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews.** 25(2): 264-296, 2012.
- SILVA, J.C.R.; OGASSAWARA, S.; ADANIA, C.H.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; FERREIRA-NETO, J.S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology.** 102(3): 217-224, 2001.
- TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology.** 30(12): 1217-1258, 2000.
- VIDOTTO, O.; KANO, F.S.; FREIRE, R.L.; MITSUKA, R.; OGAWA, L.; BONESI, G.; NAVARRO, I.T.; FRANSCISCON, F.S.G. Ocorrência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em equinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS, MT) abatidos em Apucarana, Paraná, Brasil. **Seminario: Ciências Agrárias, Londrina.** 18(1): 9-13, março, 1997.

YANG, N.; MU, M.Y.; YUAN, G.; ZHANG, G.; LI, H.K.; HE, J.B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in slaughtered horses and donkeys in Liaoning province, northeastern China. **Parasites and Vectors.** 6(1): 1-4, 2013.

Legendas das Tabelas

Tabela 1 - Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em equinos e asininos abatidos sob Serviço de Inspeção Federal.

Tabela 2: Frequência de animais reagentes à RIFI de acordo com o município de origem dos equídeos.

Tabela 3: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com o gênero dos equídeos.

Tabela 4: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com a presença de gatos nas propriedades.

Tabela 5: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com o tipo de alimentação dos equídeos.

Tabela 6: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com a fonte de água destinada para o consumo dos equídeos.

Tabela 1 - Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em equinos e asininos abatidos sob Serviço de Inspeção Federal.

RIFI	Positivo	Negativo	Total
Equino	36 (18,75%)	156 (81,25%)	192 (48,00%)
Asinino	18 (8,65%)	190 (91,35%)	208 (52,0%)
Total	54 (13,5%)	346 (86,5%)	400

*p-valor=0,0034 ;

O.R.= 2.436 (I.C: 1.359-4.363 – IC 95%)

Tabela 2: Frequência de animais reagentes à RIFI de acordo com o município de origem dos equídeos.

RIFI	MUNICÍPIO						Total
	Cachoeira Alta (GO)*	Caiapônia (GO)	Cumari (GO)	Curimatá (PI)	Serra Dourada (BA)	Xique Xique (BA)	
NEGATIVO	45 (73,77%)	20 (71,43%)	69 (85,19%)	130 (87,84%)	22 (100%)	60 (100%)	346
POSITIVO	16 (26,23%)	8 (28,57%)	12 (14,81%)	18 (12,16%)	0 (0%)	0 (0%)	54
Total	61 (15,25%)	28 (7,00%)	81 (20,25%)	148 (37,00%)	22 (5,50%)	60 (15,00%)	400
O.R. (IC 95%)	-	1.125 (0.401-3.026)	0.4891 (0.2196-1.103)	0.3894 (0.1845-0.8424)	0 (0-0.5579)	0 (0-0.1885)	-

*Categoria de referência utilizada para o cálculo de O.R. com intervalo de confiança (IC) de 95%

p < 0,0001.

Tabela 3: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com o gênero dos equídeos.

RIFI	GÊNERO		
	FÊMEAS	MACHOS	Total
NEGATIVO	176 (84,21%)	170 (89,01%)	346
POSITIVO	33 (15,79%)	21 (10,99%)	54
Total	209 (52,25%)	191 (47,75%)	400

p = 0,1880

O.R: 0.6588 (I.C: 0.3708-1.158 – IC 95%)

Tabela 4: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com a presença de gatos nas propriedades.

RIFI	PRESENÇA DE GATOS		
	NÃO	SIM	Total
NEGATIVO	87 (78,38%)	259 (89,62%)	346
POSITIVO	24 (21,62%)	30 (10,38%)	54
Total	111 (27,5%)	289 (72,25%)	400

p = 0,0051;

O.R: 0.4199 (I.C: 0.2343-0.7554 – IC 95%)

Tabela 5: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com o tipo de alimentação dos equídeos.

RIFI	ALIMENTAÇÃO		
	PASTO	PASTO E RAÇÃO	Total
NEGATIVO	334 (87,21%)	12 (70,59%)	346
POSITIVO	49 (12,79%)	5 (29,41%)	54
Total	383 (95,75%)	17 (4,25%)	400

p = 0,0642;

O.R: 2.84 (I.C: 1.066-8.394 – IC 95%)

Tabela 6: Distribuição dos resultados obtidos pela RIFI de acordo com a fonte de água destinada para o consumo dos equídeos.

RIFI	FONTE DE ÁGUA PARA O CONSUMO							Total
	Açude e Poço*	Poço	Poço, Açude e Cisterna	Riacho	Riacho e Poço	Riacho e Ribeirão	Ribeirão	
NEGATIVO	67 (88,16%)	22 (100%)	63 (87,50%)	54 (90,00%)	75 (92,59%)	20 (71,43%)	45 (73,77%)	346
POSITIVO	9 (11,84%)	0 (0%)	9 (12,50%)	6 (10,00%)	6 (7,41%)	8 (28,57%)	16 (26,23%)	54
Total	76 (19,00%)	22 (5,50%)	72 (18,00%)	60 (15,00%)	81 (20,25%)	28 (7,00%)	61 (15,25%)	400
O.R. (IC 95%)	-	0 (0- 1.334)	1.063 (0.4194- 2.695)	0.8272 (0.2712- 2.419)	0.5956 (0.1986- 1.713)	2.978 (0.974- 8.819)	2.647 (1.073- 6.175)	-

*Categoria de referência utilizada para o cálculo de O.R. com intervalo de confiança (IC) de 95%

p = 0,0020

Apêndice**QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO**

Projeto: "Pesquisa sorológica de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de produção na região do Triângulo Mineiro, MG, Brasil".

Nº._____

Estabelecimento:_____

Proprietário:_____

Responsável Técnico:_____

Endereço:_____

Telefone:_____

Data: ____ / ____ / ____

ANIMAIS DE ABATE

Sexo: F M

Idade:_____

Espécie: Suína Bovina Equina

Raça:_____

Procedência dos animais Mesmo município Outras localidades Ambos

Quais:_____

Criação de outras espécies no mesmo local? Sim Não Não sabe
Quais?_____

Propriedade de origem dos animais situa-se em: Perímetro urbano Área rural.

Tamanho das propriedades: Pequena Média Grande Não sabe

Finalidade(s) da(s) criação(ões): Carne Leite Banha Outros Não sabe

Há gato na propriedade de origem? Sim Não Não sabe

Há rato na propriedade de origem? Sim Não Não sabe

Sistema de criação: Extensiva Intensiva Semi-intensiva Não sabe

Alimentação: Pasto Ração Ambos Outros Não sabe .

Quais:_____

Os animais ingerem água: Tratada Açude Riacho Poço Cisterna

Não sabe

Durante a inspeção *ante-mortem* houveram animais com distúrbios neurológicos ou visuais?

Sim Não Não sabe.

Rebanho vermifugado? Sim Não Não sabe

Rebanho vacinado? Sim Não Não sabe Quais? _____ -

OBS:_____

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link , com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico. Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado. Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review). NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 2.000,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência. 1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS: a) o Título deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS. b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correia Amaral escreve Franklin Riet-Correia (inverso, Riet-Correia F.). Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores; c) o ABSTRACT deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título; d) o RESUMO

deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título; e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo; f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local; g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos; h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los; i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados; j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br). 2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas: a) A digitação deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens

(superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo. b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobreescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas. c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais; d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso; e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es),

devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007); f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada em caixa alta e baixa, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos. 3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura). 4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto). 5. Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. Não há traços verticais, nem fundos cinzas. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

