

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA**

Morgana Fabiana da Silva Resende

**DETECÇÃO DE HEMOPATÓGENOS E *Neospora caninum* E SOROPREVALÊNCIA
DE *Toxoplasma gondii* EM REBANHOS COMERCIAIS DE OVINOS LEITEIROS DO
ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL**

Belo Horizonte

2021

Morgana Fabiana da Silva Resende

**DETECÇÃO DE HEMOPATÓGENOS E *Neospora caninum* E SOROPREVALÊNCIA
DE *Toxoplasma gondii* EM REBANHOS COMERCIAIS DE OVINOS LEITEIROS DO
ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Júlia Angélica Gonçalves da Silveira

Coorientadores: Profa. Dra. Camila de Valgas e Bastos; Prof. Dr. Ricardo Wagner de Almeida Vitor

Belo Horizonte

2021

R431d

Resende, Morgana Fabiana da Silva. 1995 --

Detecção de Hemopatógenos e *Neospora caninum* e soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos comerciais de ovinos leiteiros de Estado de Minas Gerais, Brasil. Morgana Fabiana da Silva Resende. – 2021. 117f. il.

Orientadora: Júlia Angélica Gonçalves da Silveira.

Coorientadores: Camila de Valgas e Bastos

Ricardo Wagner de Almeida Vitor

Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Área de concentração Medicina Veterinária Preventiva.

Bibliografia: f. 86 - 107.

Anexo: 110 - 117

Apêndice: 110 – 117

1. Neosporose - Teses – 2. Toxoplasmose em animais - Doenças - Teses – 3. Ovinos – Teses – 4. OPG – Teses
I. Silveira, Júlia Angélica Gonçalves da - II. Bastos, Camila de Valgas e. - III. Vitor, Ricardo Wagner de Almeida -
IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – V. Título.

CDD – 636.089

Ficha catalográfica elaborada por Marcio Alves dos Santos - CRB 3589/0
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

MORGANA FABIANA DA SILVA RESENDE

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina Veterinária Preventiva.

Aprovado(a) em 27 de abril de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Julia Angélica Gonçalves da Silveira - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Wagner Martins Fontes do Rêgo

Dr.(a). Antônio Último de Carvalho



Documento assinado eletronicamente por **Julia Angelica Goncalves da Silveira, Professora do Magistério Superior**, em 27/04/2021, às 10:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wagner Martins Fontes do Rêgo, Usuário Externo**, em 27/04/2021, às 14:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Ultimo de Carvalho, Professor do Magistério Superior**, em 14/05/2021, às 08:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0676930** e o código CRC **D77B757E**.

À minha família, por ser porto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por conduzir com sabedoria o meu caminho e me dar forças para superar todos os obstáculos.

À minha família: mamãe, papai, Ciro e vó Deise, por serem minha sustentação, minha fonte de forças e inspiração.

Ao meu namorado, Silas, por apoiar e valorizar o meu trabalho, por ter estado ao meu lado durante esta caminhada e pelo amor e companheirismo compartilhados.

À Prof^a. Júlia, minha orientadora, pela orientação e por todos os ensinamentos transmitidos.

À Prof^a. Camila, pela amizade, companheirismo e apoio desde a graduação.

Ao Prof. Ricardo e à Rosálida, por terem auxiliado de forma tão eficiente nas análises sorológicas e por terem sido tão solícitos.

À Prof^a. Maria Isabel e à Prof^a. Aurora, por terem acreditado em mim e me acolhido em seus projetos. Vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Rafael Nicolino, por ter colaborado imensamente com as análises estatísticas.

A toda a equipe da Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da UFMG e ao Grupo de Estudos em Medicina da Produção, que sempre apoiaram e contribuíram para a minha formação.

Aos colegas do Laboratório de Protozoologia Veterinária: Mariana, Anna, Anysleide, Hudson e Soraia, pela cooperação e troca de conhecimentos. Em especial à Andreina, por ser exemplo de determinação e coragem, pelo auxílio nas análises laboratoriais e pelo companheirismo.

À equipe de coleta a campo: Brenda, Mariana, Keith e Carlos, por terem tornado o trabalho a campo leve e divertido. Em especial à Alessandra, companheira de coleta e das disciplinas, sempre pronta a ajudar. Não tenho palavras para expressar o quanto seu auxílio, suas palavras de incentivo e sua amizade foram fundamentais.

Às amigas Marina Franco, Ana Cláudia Dias, Rayanne Soalheiro, Daiane Cerqueira e Isabela Melo, pela presença mesmo que distante diante da pandemia.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Aos ovinos, animais que aprendi a admirar e amar. Espero que este trabalho contribua para o seu bem-estar.

Finalmente, à UFMG e à Escola de Veterinária, por terem sido minha segunda casa por sete anos, contribuído para minha formação profissional e meu crescimento pessoal.

“Uma mulher deve ser duas coisas: quem e o que quiser” (Coco Chanel).

RESUMO

O Brasil contabiliza aproximadamente 13,5 milhões de ovinos em estabelecimentos agropecuários, sendo que a ovinocultura leiteira brasileira se mostra em ascensão. Em busca de expandir o mercado e alcançar altos níveis de produção de leite, a manutenção da saúde do rebanho ovino por meio de um adequado manejo sanitário é imprescindível. Neste contexto, conhecer a prevalência das enfermidades no rebanho é fundamental, auxiliando na adoção de medidas corretivas e profiláticas. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar levantamento molecular de hemopatógenos e *Neospora caninum* e soroepidemiológico de *Toxoplasma gondii*, busca por ectoparasitos e levantamento dos fatores de risco associados a esses patógenos em propriedades comerciais de ovinos leiteiros do estado de Minas Gerais. O estudo foi realizado em três municípios: Glaura, Itapeçerica e Jaboticatubas, totalizando quatro propriedades e 270 amostras sanguíneas. Para as análises moleculares foi realizada a Reação em Cadeia de Polimerase – PCR – e para as análises sorológicas o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática – ELISA. Ademais, análises parasitológicas em amostras de sangue foram realizadas, como esfregaço sanguíneo periférico e de sangue total, *buffy coat*, técnica de Woo e mensuração do volume globular. Ainda, a contagem de ovos por grama de fezes – OPG – foi realizada em amostras de 197 animais a procura de ovos de tricostrongilídeos a fim de associar com a presença de anemia. A busca por ectoparasitos foi realizada por meio de catação manual e por puçá. Ainda, por meio do questionário zoonosológico aplicado nas propriedades, verificou-se quais os fatores de risco para as enfermidades estudadas neste trabalho. Os resultados foram expostos de acordo com a frequência de positividade, apresentados em percentual. Com os dados dos questionários, os resultados dos testes moleculares, sorológicos, VG, OPG e presença/ausência de ectoparasitos, as associações entre as variáveis foram realizadas por meio do teste estatístico Razão de Verossimilhança. Contudo, em situações onde frequência foi igual a zero, o teste utilizado foi utilizado o Teste Exato de Fischer. O nível de significância nas análises foi de 5% ($p \leq 0,05$). Apenas em uma propriedade foram encontrados ectoparasitos, sendo uma pulga (*Ctenocephalides felis felis*) e uma ninfa de carrapato (*Amblyomma* sp.). Por meio da PCR, resultados positivos foram obtidos para os hemopatógenos: *Mycoplasma ovis* (71,48%), *Anaplasma* spp. (4,07%), *Anaplasma marginale* (2,96%), *Ehrlichia* monocítica (2,96%), *Babesia* spp. (0,74%), e *Ehrlichia/Anaplasma* de granulócitos (0,38%). Todas as propriedades apresentaram coinfeções entre algum dos agentes estudados neste trabalho. A PCR para *N. caninum* apresentou 25,55% de positividade. A sororreatividade para *T. gondii* foi encontrada em 59 amostras (22,1%) com o índice de reatividade (I.R.) $\geq 1,0$. Por meio da análise dos esfregaços sanguíneos, *buffy coat* e Técnica de Woo, não foi encontrado nenhum patógeno. Já a mensuração do volume globular demonstrou que 43,71% dos animais apresentavam-se anêmicos no momento da coleta. O resultado do OPG foi negativo em 42,13% (83/197) das amostras analisadas e contagem com valores inferiores a 500 ovos ocorreu em 20,81% (41/197) das amostras analisadas. Infecção grau leve (500-800 ovos) foi detectada em 6,59% (13/197) das amostras, grau moderado (800-1.500 ovos) em 4,56% (09/197) e grau elevado (<1.500 ovos) em 26,90% (53/197). Os fatores de riscos com significância na positividade para os patógenos foram: o reuso de agulhas para *M. ovis*; a presença de ectoparasitos para *Anaplasma* spp. e *Ehrlichia* monocítica; propriedades com as fontes de água poço, nascente e cisterna para *N. caninum*; ovinos pertencentes à categoria >24 meses de vida para *N. caninum*; e na sororreatividade para *T. gondii* a presença de gatos, fontes de água poço e nascente e a ocorrência de distúrbios reprodutivos. As hemoparasitoses estavam presentes em todos os rebanhos analisados devendo ser considerada um diagnóstico diferencial para ovinos anêmicos. Além disso, são indispensáveis o estabelecimento de medidas para o controle da toxoplasmose nos rebanhos e o maior entendimento do papel de *N. caninum* nos distúrbios reprodutivos desses animais.

Palavras-chave: Brasil. Hemoparasitoses. Neosporose. OPG (Contagem de ovos por grama de fezes). Ovinocultura. Toxoplasmose.

ABSTRACT

Brazil accounts for approximately 13.5 million sheep in agricultural establishments and the Brazilian dairy sheep industry is on the rise. In order to expand the market and achieve high levels of milk production, maintaining the health of the sheep herd through proper sanitary management is essential. In this context, knowing the prevalence of diseases in the herd is essential, helping in the adoption of corrective and prophylactic measures. Thus, the objective of this work was to carry out a molecular survey of hemopathogens and *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* seroepidemiological, search for ectoparasites and survey of risk factors associated with these pathogens in commercial properties of dairy sheep in the state of Minas Gerais. The study was carried out in three municipalities: Glaura, Itapeçerica and Jaboticatubas, totaling four properties and 270 blood samples. For the molecular analyzes, the Polymerase Chain Reaction – PCR – was performed and for the serological analyzes the Enzyme Immunoabsorbent Assay – ELISA. In addition, parasitological analyzes on blood samples were performed, such as peripheral and whole blood smear, buffy coat, Woo technique and measurement of globular volume. Also, the eggs per gram – EPG – was carried out on samples from 197 animals looking for trichostrongylid eggs in order to associate with the presence of anemia. The search for ectoparasites was carried out by manual collection and by puçá. Still, through the zoonitary questionnaire applied in the properties, it was verified which are the risk factors for the diseases studied in this work. The results were exposed according to the frequency of positivity, presented as a percentage. With the data from the questionnaires, the results of the molecular, serological, VG, EPG tests and the presence / absence of ectoparasites, the associations between the variables were performed using the Likelihood Ratio statistical test. However, in situations where frequency was equal to zero, the test used was the Fischer Exact Test. The level of significance in the analyzes was 5% ($p \leq 0.05$). Ectoparasites were found in only one property, being a flea (*Ctenocephalides felis felis*) and a tick nymph (*Amblyomma* sp.). Through PCR, positive results were obtained for hemopathogens: *Mycoplasma ovis* (71.48%), *Anaplasma* spp. (4.07%), *Anaplasma marginale* (2.96%), *Ehrlichia monocítica* (2.96%), *Babesia* spp. (0.74%), and *Ehrlichia / Anaplasma Granulocyte* (0.38%). All properties showed co-infections among some of the agents studied in this work. The PCR for *N. caninum* showed 25.55% positivity. The seroreactivity for *T. gondii* was 59 (22.1%) with a reactivity index (I.R.) ≥ 1.0 . Through the analysis of blood smears, buffy coat and Woo's technique, no pathogen was found. The measurement of the globular volume showed that 43.71% of the animals were anemic at the time of collection. The EPG result was negative in 42.13% (83/197) of the analyzed samples and counting with values below 500 eggs occurred in 20.81% (41/197) of the analyzed samples. Mild grade infection (500-800 eggs) was detected in 6.59% (13/197) of the samples, moderate grade (800-1,500 eggs) in 4.56% (09/197) and high grade ($< 1,500$ eggs) in 26.90% (53/197). The risk factors with significance in the positivity for the pathogens were: the reuse of needles for *M. ovis*, the presence of ectoparasites for *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* monocytic; properties with well, spring and cistern water sources for *N. caninum*; sheep belonging to the categories > 24 months old for *N. caninum*; and in seroreactivity for *T. gondii* the presence of cats, well and spring water sources and the occurrence of reproductive disorders. Hemoparasitosis were present in all the herds analyzed and should be considered a differential diagnosis for anemic sheep. In addition, it is essential to establish measures for the control of toxoplasmosis in herds and a greater understanding of the role of *N. caninum* in the reproductive disorders of these animals.

Keywords: Brazil. Hemoparasitosis. Neosporosis. EPG (eggs per gram). Sheep. Toxoplasmosis.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Amostras positivas para hemopatógenos, por método molecular, em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020 59
- Gráfico 2 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de *Neospora caninum* dos ovinos (n = 270) provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020 70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição dos ovinos no Brasil anos de 2016-2018	19
Figura 2 – Método FAMACHA [®] sendo realizado em ovino	21
Figura 3 – Localização das propriedades onde as coletas foram realizadas	39
Figura 4 – Coletas sendo realizadas a campo	41
Figura 4A – Coleta de sangue por meio de punção da veia jugular em tubo do tipo <i>vacutainer</i> contendo EDTA	41
Figura 4B – Coleta de moscas com o auxílio de um puçá	41
Figura 5 – Aplicação do questionário zoonosológico	41
Figura 5A – Questionário zoonosológico aplicado na propriedade	41
Figura 5B – Questionário zoonosológico sendo preenchido na propriedade	41
Figura 6 – Testes parasitológicos sendo realizado em laboratório	43
Figura 6A – Preenchimento de capilares com sangue total para a leitura do VG e do Woo	43
Figura 6B – Esfregaços sanguíneos de sangue total	43
Figura 7 – Realização da análise parasitológica de fezes	50
Figura 7A – Preenchimento da câmara de Mac Master com a solução preparada (fezes+água+Sheater)	50
Figura 7B – Contagem dos ovos em microscópio óptico	50
Figura 8 – Ectoparasitos encontrados nos ovinos da Propriedade 02	52
Figura 8A – <i>Ctenocephalides felis felis</i>	52
Figura 8B – <i>Amblyomma</i> sp	52
Figura 9 – Figura 9 – Análise dos produtos da nPCR em gel de agarose 1% corado em Gel Red. <i>Primers</i> : HBTF5/HBTR5. 1- Peso molecular (banda alvo: 595 pb); 2- Controle positivo <i>Mycoplasma</i> spp.; 3 a 13- amostras positivas. 14-branco	60
Figura 10 – Análise dos produtos da nPCR em gel de agarose 1% corado em Gel Red. <i>Primers</i> : 1º reação: NS16SCH1F/NS16SCH1R; 2º reação: NS16SCH2F/NS16SCH2R. 1- Peso molecular (banda alvo: 443 pb); 2- Controle positivo <i>Ehrlichia canis</i> ; 3 a 7- amostras positivas da Propriedade 02; 8- branco da 1º reação; 9- branco da 2º reação	65
Figura 11 – Análise dos produtos da nPCR em gel de agarose 1% corado em Gel Red. <i>Primers</i> : 1º reação: RIB-19/RIB-20; 2º reação: BAB-rumF/BABrumR. 1- Peso molecular (banda alvo: 430 pb); 2- Controle positivo <i>Babesia bigemina</i> ; 3- amostra positiva; 4- branco da 1º reação; 5- branco da 2º reação	68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Estratificação das amostras coletadas por propriedade	40
Quadro 2 – Controles positivos utilizados em cada reação da PCR	44
Quadro 3 – Sequência de iniciadores que foram utilizados para identificação dos agentes em estudo	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições de tempo e temperatura aplicadas para amplificação de DNA dos agentes em estudo	45
Tabela 2 – Volume globular das amostras de sangue de ovinos do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	54
Tabela 3 – Volume globular das amostras de sangue de ovinos provenientes de três diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	55
Tabela 4 – Coloração da mucosa dos ovinos analisados do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	57
Tabela 5 – Coloração da mucosa dos ovinos provenientes de três diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	57
Tabela 6 – Frequência de infecção por <i>Mycoplasma</i> hemotrópico e <i>Mycoplasma ovis</i> nos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	61
Tabela 7 – Distribuição da positividade por <i>Anaplasma</i> em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	63
Tabela 8 – Distribuição da positividade por <i>Anaplasma marginale</i> em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	64
Tabela 9 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de <i>Ehrlichia</i> monocítica dos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	65
Tabela 10 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de <i>Ehrlichia/Anaplasma</i> de granulócitos ou plaquetas dos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	66
Tabela 11 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de <i>Babesia</i> e <i>Theileria</i> dos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	68
Tabela 12 – Distribuição de <i>Neospora caninum</i> em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	71
Tabela 13 – Frequência de amostras positivas de <i>N. caninum</i> na PCR em amostras de ovinos de acordo com variáveis individuais (sexo e idade) provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	72
Tabela 14 – Frequência de positividade para anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> detectados por ELISA em soros de ovinos do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	73

Tabela 15 – Frequência de positividade para anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> detectados por ELISA em soros de ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	74
Tabela 16 – Frequência de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> detectados por ELISA em soros de ovinos de acordo com variáveis individuais (sexo e idade) provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	75
Tabela 17 – Avidéz de anticorpos IgG anti- <i>T. gondii</i> em ovinos provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	76
Tabela 18 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 01 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	78
Tabela 19 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 02 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	79
Tabela 20 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 03 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	80
Tabela 21 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 04 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	80
Tabela 22 – Contagem de ovos de tricostrongilídeos em fezes de ovinos provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	81
Tabela 23 – Contagem de ovos de tricostrongilídeos em fezes de ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020	82

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

°C	Grau Celsius
ABCOL	Associação Brasileira de Criadores de Ovinos Leiteiros
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
dL	Decilitro
DMVP	Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DPI	Dias após a inoculação
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EG	<i>Ehrlichia</i> spp. granulocítica
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EM	<i>Ehrlichia</i> spp. monocítica
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA	Estados Unidos da América
EV	Escola de Veterinária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
g	Gramas
Ha	Hectares
Hb	Hemoglobina
HGA	Anaplasmosse granulocítica humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IFN- γ	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IL10	Interleucina 10
IL17	Interleucina 17
IL18	Interleucina 18
IL2	Interleucina 2
IL4	Interleucina 4
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
LAMP	<i>Loop-mediated isothermal amplification</i>

MG	Minas Gerais
mg	Miligrama
ml	Mililitro
MSP	Proteína principal de superfície
nm	Nanômetro
nPCR	Reação em cadeia de polimerase <i>nested</i>
Pb	Pares de base
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR	Reação em cadeia de polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
PO	Puro de origem
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
SC	Santa Catarina
TAE	Tampão Tris-Acetato-EDTA
Taq	Taq DNA Polimerase
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UHT	<i>Ultra high temperature</i>
VG	Volume globular
μ l	Microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivo geral	19
2.2	Objetivos específicos	19
3	REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1	Ovinocultura leiteira	20
3.2	Hemopatógenos	22
3.2.1	<i>Mycoplasma hemotrópico</i>	22
3.2.2	<i>Anaplasma</i>	25
3.2.3	<i>Ehrlichia</i>	28
3.2.4	<i>Babesia</i>	29
3.2.5	<i>Theileria</i>	31
3.2.6	<i>Trypanosoma vivax</i>	32
3.3	<i>Neospora caninum</i>	34
3.4	<i>Toxoplasma gondii</i>	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1	Áreas de estudo	40
4.2	População e amostragem do estudo	41
4.3	Coletas	41
4.4	Questionário zoonitário	42
4.5	Ectoparasitos	43
4.6	Análises laboratoriais	43
4.6.1	Locais de realização das análises laboratoriais	43
4.6.2	Análises parasitológicas em amostras sanguíneas	43
4.6.3	Análises moleculares	44
4.7	Sequenciamento nucleotídico	47

4.7.1	Análise das sequências em bancos de dados.....	48
4.8	Análises sorológicas para <i>T. gondii</i>	48
4.8.1	Ensaio de imunoabsorção enzimática – ELISA.....	49
4.8.2	Teste de ELISA para avaliação da avidéz de anticorpos IgG.....	50
4.9	Análise parasitológica de fezes.....	51
4.10	Análise dos dados	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1	População do estudo, questionário zoonitário e fatores de risco	52
5.2	Ectoparasitos	52
5.3	Análises em amostras sanguíneas.....	54
5.3.1	Análises de esfregaços sanguíneos e <i>Buffy coat</i>	54
5.3.2	Volume globular e técnica de Woo.....	54
5.4	Avaliação de mucosa.....	57
5.5	Reação em Cadeia de Polimerase – PCR.....	59
5.5.1	Hemopatógenos.....	59
5.5.2	<i>Neospora caninum</i>	71
5.6	Sequenciamento nucleotídico.....	74
5.7	Análises sorológicas para <i>T. gondii</i>	74
5.8	Coinfecções	78
5.9	Análise parasitológica de fezes.....	82
6	CONCLUSÕES	85
	REFERÊNCIAS.....	86
	ANEXO.....	108
	APÊNDICE	111

1 INTRODUÇÃO

Segundo o censo agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2017), o Brasil contabiliza, considerando a atualização dos dados para 2019, 13.789.345 ovinos. A criação dos ovinos possibilita a produção de alimento, seja pelo leite ou pela carne, e também a produção de lã, fibra processada industrialmente para usos têxteis, limpeza e coloração (VIANA, 2008). A produção de leite de ovelha, no mercado internacional, é utilizada principalmente para a confecção de produtos com maior valor agregado, como queijos e iogurtes (RANCOURT et al., 2006). No mercado nacional, devido à crescente aceitação dos produtos pelos consumidores e à organização dos produtores, a ovinocultura leiteira se mostra em ascensão (PENNA, 2011).

Desta forma, em busca de expandir o mercado da ovinocultura leiteira e alcançar altos níveis de produção de leite, a manutenção da saúde do rebanho ovino por meio de um adequado manejo sanitário é imprescindível. Nesse contexto, conhecer a prevalência das enfermidades no rebanho é fundamental, auxiliando na adoção de medidas corretivas e, posteriormente, profiláticas.

Nesse contexto, os hemopatógenos são responsáveis por causar danos às células sanguíneas, podendo resultar em anemia, anorexia, icterícia, ganho de peso reduzido, perda de produção e reprodução, alta morbidade e mortalidade (ADEMOLA; ONYICHE, 2013). Na bovinocultura, as hemoparasitoses são muito prevalentes e acarretam elevadas perdas econômicas. Em muitas regiões, são consideradas fator limitante ao desenvolvimento desses animais. No que tange aos pequenos ruminantes, o desconhecimento da prevalência e da relevância dos hemopatógenos ainda é realidade. Em sua maioria, ovinos e caprinos anêmicos são empiricamente diagnosticados com hemoncose. Causada pelo nematódeo *Haemonchus contortus*, a hemoncose tem grande importância na criação de pequenos ruminantes, podendo inviabilizar a cadeia produtiva dessas espécies (TAYLOR et al., 2017). Neste contexto, deve-se ressaltar a escassez de pesquisas relacionando as hemoparasitoses em ovinos como causadoras de anemia, o que pode resultar em subestimação da relevância dos hemopatógenos para a espécie.

Os danos reprodutivos são responsáveis por grandes perdas econômicas na ovinocultura e os protozoários *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* são relevantes, já que podem causar abortos em ovinos. Dados acerca da prevalência e relevância desses agentes etiológicos em ovelhas em Minas Gerais são faltosos na literatura, sendo necessária uma investigação minuciosa acerca de tais temas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar levantamento molecular de hemopatógenos e *Neospora caninum* e soroepidemiológico de *Toxoplasma gondii* em propriedades comerciais de ovinos leiteiros do estado de Minas Gerais.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar levantamento molecular dos hemopatógenos dos gêneros *Babesia*, *Theileria*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Mycoplasma* hemotrópico em propriedades comerciais de ovinos leiteiros do estado de Minas Gerais;
- Realizar levantamento molecular dos hemopatógenos das espécies *Mycoplasma ovis* e *Trypanosoma vivax* em propriedades comerciais de ovinos leiteiros do estado de Minas Gerais;
- Realizar levantamento molecular de *Neospora caninum* em propriedades comerciais de ovinos leiteiros no estado de Minas Gerais;
- Realizar levantamento soroepidemiológico de *Toxoplasma gondii* em propriedades comerciais de ovinos leiteiros do estado de Minas Gerais;
- Fazer análise de prevalência de soropositividade de *T. gondii*;
- Realizar a identificação dos ectoparasitos encontrados nas propriedades comerciais de ovinos leiteiros do estado de Minas Gerais;
- Relacionar a quantificação dos ovos de tricostrongilídeos com os valores de volume globular associado à presença/ausência de hemopatógenos;
- Fazer análise das coinfeções/animal;
- Fazer análise de fatores de risco ou protetivos para as hemoparasitoses, toxoplasmose e neosporose.

3 REVISÃO DE LITERATURA

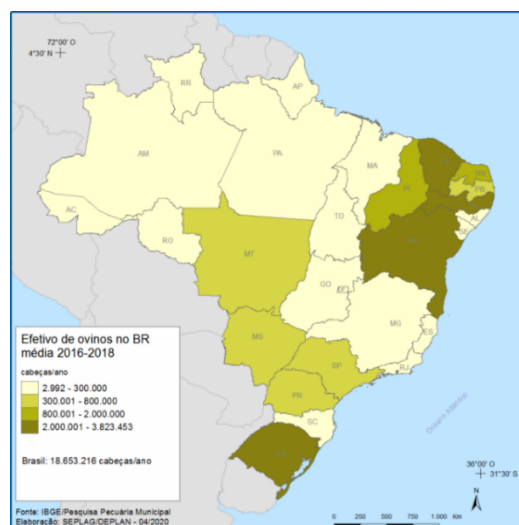
3.1 Ovinocultura leiteira

Foi em uma região desértica da Ásia Central, há mais de 4.000 anos, que os ovinos foram domesticados pelo homem, sendo considerada a primeira espécie de produção a ser explorada (MASON, 1984). O objetivo da criação dos ovinos consistia na produção de alimentos, na forma de carne e leite, e de outros produtos, tais como a lã extraída destes animais (VIANA, 2008).

A relevância da ovinocultura é muito variável entre os continentes e países, sendo o determinante as necessidades e condições de cada local. A distribuição global desse setor é concentrada em algumas regiões e geralmente determinada por fatores ambientais, culturais e socioeconômicos (FAOSTAT, 2014).

Em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, o leite ovino é considerado uma excelente alternativa de suplementação nutricional, evitando a fome e deficiências de proteínas, vitaminas, cálcio e energia (HAENLEIN, 2001). No Brasil, a ovinocultura leiteira ainda é uma atividade pouco expressiva (ROHENKOHL et al., 2011). Os primeiros ovinos com aptidão leiteira foram introduzidos no sul do país em 1992. A raça escolhida foi a Lacaune, de origem francesa, que atualmente está bem adaptada às condições climáticas e nutricionais do país (BRITO et al., 2006). A distribuição dos ovinos entre os estados brasileiros está representada na Figura 1.

Figura 1 – Distribuição dos ovinos no Brasil anos de 2016-2018



Fonte: IBGE

Por meio da mobilização e organização dos produtores, no ano de 2010, houve a criação da Associação Brasileira de Criadores de Ovinos de Leite (ABCOL), sediada em Chapecó-SC, que objetiva valorizar e divulgar o leite ovino no país (PENNA, 2011). Outra iniciativa que visa impulsionar o comércio de leite ovino e seus derivados é o projeto “Caravana leite de cabra e ovelha”. Idealizado por pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Caprinos e Ovinos, o projeto objetiva divulgar a criação de pequenos ruminantes leiteiros e compartilhar informações técnico-científicas sobre os dois setores e suas oportunidades (EMBRAPA, 2020). Assim, o mercado de derivados de leite de ovelha no Brasil vem aumentando, sendo cada vez mais aceito pelos consumidores.

O leite é considerado um dos alimentos mais completos do ponto de vista nutricional. Tal afirmativa deve-se ao seu elevado valor biológico, alta digestibilidade, além de ser excelente fonte de proteína e cálcio (REVERS et al., 2016). A composição média do leite ovino apresenta 17,5% de sólidos totais; 6,5% de gordura; 3,5% de proteína; 4,8% de lactose e 0,92% de minerais (PULINA; NUDDA, 2004). Além da famosa produção de queijos finos, outros produtos podem ser industrializados a partir do leite ovino, tais como iogurtes, sorvetes, leite congelado, leite longa vida (UHT), leite em pó e cosméticos (ROHENKOHL et al., 2011). No Brasil, a fabricação de derivados de leite de ovelha em escala industrial ocorre na região Oeste Catarinense, nas regiões da Serra e Metropolitana do Rio Grande do Sul, no Centro-Sul do Rio de Janeiro e no Sul de Minas Gerais (NESPOLO et al., 2012).

Para a obtenção do pleno desenvolvimento da produção dos ovinos é necessário conhecer as principais medidas de manejo sanitário, bem como as doenças que acometem a espécie e as formas de evitá-las e tratá-las. Dessa forma, é possível reduzir os índices de mortalidade, bem como otimizar o desenvolvimento dos animais (COSTA, 2002).

A verminose gastrointestinal é considerada o principal problema enfrentado pelos criadores de ovinos. São responsáveis por causar diminuição no ganho de peso, baixas taxas reprodutivas, menor aproveitamento dos alimentos, gastos com tratamentos e até mortalidade dos animais (SOTOMAIOR et al., 2009). Neste contexto, a hemoncose apresenta destaque. Causada pelo *Haemonchus contortus*, é considerada um fator limitante a atividade pecuária, podendo chegar a inviabilizar as cadeias produtivas. Este fato pode ocorrer se a mucosa digestiva sofrer lesões, se houver perda sanguínea do organismo, disfunções na absorção dos nutrientes, diarreia com sangue e anemia, indicadores estes que irão contribuir para determinar a gravidade e o grau da infecção (TAYLOR et al., 2017).

O diagnóstico da hemoncose pode ser realizado por meio do método FAMACHA[®], o qual classifica a coloração da mucosa ocular em 5 graus (Figura 2), determinando a necessidade

ou não de vermifugação dos animais. O escore FAMACHA[®] está diretamente relacionado à anemia e indiretamente ao hematócrito (VG). A escala varia de 1 a 5, sendo 1 a mucosa muito corada e o animal considerado não anêmico (VG>27%) e 5 a mucosa muito hipocorada, sugerindo anemia grave (VG<13%) (KENYON; JACKSON, 2012; MAIA et al., 2015; VAN WYK; BATH, 2002).

Figura 2 – Método FAMACHA[®] sendo realizado em ovino



Fonte: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/1491473/metodos-alternativos-como-o-famacha-reduzem-o-uso-de-anti-helminticos-e-a-resistencia-parasitaria>

Diante do exposto, fica evidente que o tratamento da hemonose é realizado de forma empírica, uma vez que existem outras causas de anemia em ovinos, como as hemoparasitoses. Assim, pode-se pressupor que muitos animais são tratados erroneamente, favorecendo o desenvolvimento de resistência dos parasitos gastrintestinais às bases utilizadas em seu controle (SUTHERST; COMINS, 1979). Além disso, por meio de tratamentos errôneos, os quais não tem como foco o agente realmente envolvido, os animais permanecem infectados de forma subclínica, causando prejuízos, muitas vezes, imperceptíveis.

3.2 Hemopatógenos

3.2.1 *Mycoplasma* hemotrópico

O tráfico vetorial aumentou significativamente nos últimos anos devido à proximidade cada vez maior entre os animais domésticos e selvagens, o que permitiu o compartilhamento de vetores e patógenos (PALATNIK-DE-SOUSA; DAY, 2011). Neste contexto, os micoplasmas hemotrópicos, também denominados hemoplasmas, são considerados importantes patógenos emergentes na medicina veterinária e na medicina humana (MAGGI et al., 2013)

Micoplasmas hemotrópicos são bactérias gram-negativas de localização epi-eritrocítica pertencentes à ordem Mycoplasmatales, família Mycoplasmataceae, gênero *Mycoplasma* (EUZÉBY, 1997). Não apresentam parede celular e seu genoma é considerado diminuto, o que gera estrita dependência à célula hospedeira. Variam de 0,3 a 1 µm de diâmetro e podem ser encontrados na forma de cocos, anéis ou hastes (MESSICK, 2004).

Acredita-se que esses organismos apresentam ampla distribuição mundial, sendo sua principal forma de transmissão por meio de vetores artrópodes. Há uma íntima relação entre alta prevalência de hemoplasmas e países tropicais, uma vez que as condições climáticas desses locais são propícias para a manutenção dos vetores (MACIEIRA et al., 2008). Dentre as rotas de transmissão de diversas espécies de hemoplasmas, podemos citar as pulgas, *Ctenocephalides felis*, como provável vetor de *Mycoplasma haemofelis* e “*Candidatus M. haemominutum*” (LAPPIN et al., 2006; SHAW et al., 2004; WOODS et al., 2005) e o piolho *Polyplax serrata*, transmitindo *Mycoplasma coccoides* para ratos (BERKENKAMP; WESCOTT, 1988). O carrapato canino *Rhipicephalus sanguineus* é o vetor do *Mycoplasma haemocanis* (SENEVIRATNA, 1973). Também há evidências de transmissão vertical em bovinos (GIROTTO-SOARES et al., 2016).

A sintomatologia causada pelos hemoplasmas são pouco específicas, podendo variar de uma anemia grave a uma infecção crônica sem sinais clínicos. Animais com infecção aguda podem apresentar uma anemia hemolítica leve a fatal, além de anorexia, febre, icterícia e hipoglicemia. Já a forma crônica é associada à ausência de sinais clínicos. Entretanto, as consequências da infecção a longo prazo ainda são desconhecidas (HOELZLE, 2008).

O diagnóstico da infecção, historicamente, se baseou na avaliação de esfregaços de sangue. Devido à parasitemia cíclica e infecção crônica, esta técnica não apresenta boa sensibilidade e especificidade, não sendo uma boa indicação para o diagnóstico da infecção. As técnicas de diagnóstico molecular, como a PCR, têm sido amplamente usadas com sucesso para identificar os animais infectados de forma aguda e crônica (HOELZLE, 2008; MESSICK, 2004). O tratamento e controle de infecção, com base em relatórios da Austrália, indicam que a redução do estresse e uma boa nutrição são as melhores maneiras de recuperar um animal (DPIRD, 2018).

Com base na detecção de fragmentos do gene 16S rDNA, duas espécies de hemoplasmas foram descritas em pequenos ruminantes, *Mycoplasma ovis* (anteriormente denominado *Eperythrozoon ovis*) e *Candidatus Mycoplasma haemovis* (HORNOK et al., 2012). *Mycoplasma ovis* é um patógeno zoonótico emergente com distribuição mundial, podendo causar anemia hemolítica, icterícia e baixo desempenho nos animais. As consequências da

infecção já relatadas podem incluir edema submandibular e perda de peso. Em cordeiros, a hemoplasmose pode limitar o ganho de peso, ocasionar sinais neurológicos e musculares, o que pode ser explicado devido à hipoxemia desencadeada pela anemia grave. Porém, muitos animais jovens infectados permanecem assintomáticos (DADDOW, 1981). Estudos com infecção experimental por *M. ovis* em ovinos mostraram que o grupo controle (sem infecção) apresentou média de 10,35 g/dL Hb, com VG de 30,5%, enquanto o grupo infectado apresentou 6,45 g/dL Hb, com um VG médio de 18,17%. Isso sugere que a infecção causa uma grande alteração hematológica em ovelhas (DADDOW, 1979).

Há uma variedade de rotas de transmissão do *M. ovis* já descritas, como carrapatos, pulgas, mosquitos e piolhos (AKTAS; OZUBEK, 2017; BERKENKAMP; WESCOTT, 1988; DADDOW, 1981; LAPPIN et al., 2006; SENEVIRATNA, 1973; SHAW et al., 2004; WOODS et al., 2005). Há também a possibilidade de transmissão iatrogênica, seja por meio do contato com sangue infectado em um procedimento cirúrgico, vacinação, aplicação de medicamentos, entre outros (CAMPBELL et al., 1971; PHILBEY et al., 2006). A transmissão transplacentária também ocorre, permitindo assim uma ampla circulação do patógeno não apenas em ovelhas, mas também em outros mamíferos domésticos e selvagens, como já demonstrado no Brasil para cervos de vida livre e em cativeiro (GRAZZIOTIN et al., 2011).

Machado et al. (2017) determinaram a prevalência de hemoplasmas em cabras do estado da Paraíba, nordeste do Brasil. Foram coletadas 402 amostras de sangue de cabras, as quais foram submetidas à PCR. As amostras positivas foram confirmadas por sequenciamento. Um total de 158/402 (39,3%) cabras foram positivas para *M. ovis*. O autor sugere que o agente é altamente prevalente em cabras de nordeste do Brasil, principalmente em animais leiteiros. Dados sobre *M. ovis* em cabras foi raramente relatado, com prevalência variando de ausente na Austrália, Tunísia e Marrocos (AIT LBACHA et al., 2017; DADDOW, 1979) para 20% ou 94% em Hungria e Malásia, respectivamente (HORNOK et al., 2012; JESSE et al., 2015). Na Argentina, um estudo descreveu um surto de micoplasmose resultando na morte de ovelhas. A necropsia mostrou sinais de anemia, icterícia subcutânea leve, icterícia hepática acentuada, esplenomegalia, rins friáveis, congestão e edema pulmonar. Os ovinos foram positivos na PCR para *M. ovis* (AGUIRRE et al., 2009).

Souza et al. (2019) objetivaram apresentar o primeiro relato de micoplasmas hemotrópicos em ovinos no Brasil. Amostras de sangue foram coletadas de 33 ovelhas de uma fazenda no sul do Brasil e testadas para hemoplasmas usando a PCR. Das 33 amostras, 26 (78,8%) apresentaram resultado positivo. O sequenciamento das amostras positivas mostrou 100% de identidade com múltiplas sequências de *M. ovis* 16S rDNA. O autor destaca que,

considerando que o *Haemonchus contortus* é uma importante causa de anemia em ovinos, um agente que cause hemólise, como *M. ovis*, apresenta grande relevância. A ocorrência de *M. ovis* observada neste estudo (78,8%) foi superior à encontrada para ovinos na Hungria (51,5%) (HORNOK et al., 2009), caprinos na China (41%) (SONG et al., 2014), e caprinos no Brasil (39,30%) (MACHADO et al., 2017).

3.2.2 *Anaplasma*

Anaplasma é um gênero de rickettsia intracelular obrigatória (HORNOK et al., 2007), pertencente à ordem Rickettsiales e à família Anaplasmataceae. São patógenos que apresentam como vetores biológicos os carrapatos e são encontrados dentro de vacúolos parasitóforos no citoplasma da célula hospedeira (KOCAN et al., 2015). A transmissão do patógeno também pode ocorrer mecanicamente, por meio de picada de moscas hematófagas, de forma iatrogênica, por meio de fômites contaminados e de forma transplacentária (KOCAN et al., 2010).

A reclassificação da ordem Rickettsiales ocorrida no ano 2001 expandiu o gênero *Anaplasma*, que anteriormente continham patógenos que eram hospedeiros específicos para ruminantes (*Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* e *Anaplasma ovis*), pela adição de *Anaplasma phagocytophilum*, uma unificação de três organismos previamente classificados como *Ehrlichia* (*Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* e o agente sem nome da erliquiose granulocítica humana). Também foram incluídos no gênero *Anaplasma* o *Anaplasma bovis* (anteriormente *Ehrlichia bovis*), *Anaplasma platys* (anteriormente *Ehrlichia platys*) e *Aegyptianella pullorum*. Apesar da relação genômica dos organismos reagrupados, muitos aspectos de sua biologia são diversos, incluindo a especificidade do hospedeiro e da célula hospedeira, proteínas de superfície principais (MSPs) e os carrapatos vetores (DUMLER et al., 2001).

Um estudo realizado por Obaidat e Salman (2019) estimou a soroprevalência e avaliou os fatores de risco associados à anaplasmose em vacas leiteiras, ovelhas e cabras em todas as regiões da Jordânia, Ásia. Animais aparentemente saudáveis de 135 fazendas foram testados para *Anaplasma* spp. por meio do teste indireto ELISA competitivo. No nível de fazenda, 36%, 94% e 94% das fazendas de bovinos, ovinos e caprinos, respectivamente, foram soropositivas para *Anaplasma* spp. No que se refere aos níveis individuais, 22%, 89% e 82% das vacas, ovelhas e cabras testadas, respectivamente, foram soropositivas, o que demonstra alta soroprevalência de *Anaplasma* spp., em especial nos pequenos ruminantes. Usando o Teste

Exato de Fisher, houve uma associação significativa entre alta soroprevalência e aborto recente em pequenos ruminantes.

Anaplasma marginale, patógeno intraeritrocítico, foi encontrado em propriedades de bovinos leiteiros e é considerado um dos principais patógenos intraeritrocítico de bovinos (BYARUHANGA et al., 2018). Juntamente com a *Babesia bigemina* e a *Babesia bovis*, compõe o complexo Tristeza Parasitária Bovina, enfermidade que apresenta elevada prevalência em países tropicais e subtropicais e é responsável por elevadas perdas econômicas, sendo considerada fator limitante à criação de bezerras. A prevalência e a relevância de *A. marginale* em pequenos ruminantes ainda não está bem consolidada na literatura. Alguns pesquisadores têm iniciado esse levantamento, como Yousefi et al. (2017), que determinaram a prevalência de *A. marginale* em ovelhas e cabras no oeste do Irã. Foram analisadas 370 amostras de sangue por método molecular (PCR), sendo 206 amostras de ovelhas e 164 de cabras. As cabras foram todas negativas e 0,54% das ovelhas foram positivas, indicando que essa espécie animal é reservatório potencial para *A. marginale*. No Brasil, Silva et al. (2018) relataram a primeira detecção molecular de *A. marginale* em caprinos do Nordeste com base na análise de sequenciamento dos genes *msp1 α* , *msp4* e *msp5*. Um estudo recente, conduzido por Barbosa et al. (2021), investigou a ocorrência de *A. marginale* em uma propriedade multiespécies (caprinos, ovinos e bovinos) no estado da Paraíba. Um total de 47/119 das cabras e 2/71 das ovelhas foram sororreativas pelo ELISA comercial. Os bovinos apresentaram resultado negativo. Os autores sugerem que as cabras, principalmente, podem desempenhar um papel na epidemiologia da anaplasmosse.

Anaplasma bovis e *A. ovis* parasitam monócitos e eritrócitos, respectivamente. Esses agentes foram relatados em animais domésticos e selvagens em várias partes do mundo (LEE et al., 2018; LIU et al., 2012). Em pequenos ruminantes, *A. ovis* pode causar anemia, febre, perda de peso, aborto espontâneo, icterícia e morte (HORNOK et al., 2013). A gravidade da infecção pode ser amplificada sob condições estressantes, como coinfeção, vacinação, verminose, elevada infestação de carrapatos, más condições de saúde e elevadas temperaturas (RENNEKER et al., 2013). Um estudo conduzido por Yousefi et al. (2017) visou determinar a prevalência de *A. ovis* em ovelhas e cabras no oeste do Irã. Foram analisadas por PCR 370 amostras de sangue, sendo 206 amostras de ovelhas e 164 de cabras, dessas 20,8% das ovelhas e 34,7% das cabras foram positivas, demonstrando uma alta prevalência de *A. ovis* em pequenos ruminantes. Renneker et al. (2013) realizaram um estudo semelhante, avaliando a prevalência de *A. ovis* em quatro países distintos. Ao todo, 1.161 amostras de sangue da Turquia (n = 830), Iraque (n = 195), Sudão (n = 96) e Portugal (n = 40) foram examinadas por PCR, dos quais

31,4%, 66,6%, 41,6% e 82,5%, respectivamente, foram positivas. Isso indica alta prevalência de *A. ovis* nos países sob investigação, e pode-se supor que a situação em outras áreas do mundo seja semelhante. Importante destacar que, até o momento, não há relato de *A. ovis* no Brasil.

Anaplasma phagocytophilum é um patógeno encontrado em células granulocíticas de importância zoonótica e foi identificado pela primeira vez como o agente etiológico da febre transmitida por carrapatos em ovelhas e outros ruminantes, uma doença que afeta a produção dos animais acometidos. Animais jovens são os mais afetados e os sinais clínicos incluem febre alta, anorexia, queda repentina na produção de leite e aborto em ovelhas (STUEN et al., 2013). O *A. phagocytophilum* infecta os neutrófilos de bovinos, ovelhas, cabras, cavalos, cães, lebres, iaques e várias espécies de roedores (DE LA FUENTE et al., 2016; KAWAHARA et al., 2006; OCHIRKHUU et al., 2017; ROCCHIGIANI et al., 2018). No Brasil, Santos et al. (2011) detectaram *A. phagocytophilum* em cães localizados no Rio de Janeiro. Das 253 amostras analisadas por PCR, 7,11% (18/253) foram positivas. Por meio do sequenciamento nucleotídico comprovou-se que a sequência obtida apresentava 100% de identidade com outras sequências de *A. phagocytophilum* publicadas no *GenBank*. Nogueira et al. (2017) avaliaram 97 amostras de cavalos do Maranhão, bem como identificaram os carrapatos coletados. Por meio da RIFI, foi detectada a soroprevalência de 11,34% para anticorpos anti-*A. phagocytophilum*. Um total de 170 carrapatos foram coletados e identificados como *Dermacentor nitens*, *Amblyomma cajennense* sensu lato e *Rhipicephalus microplus*. Todos os carrapatos foram negativos para *A. phagocytophilum* na PCR. Até o momento, não há relato desse agente em ovinos. De acordo com nosso conhecimento, esse é o primeiro trabalho que investiga *A. phagocytophilum* em ovinos no Brasil. Desde 2008, é associado à Anaplasmoze Granulocítica Humana (HGA) na China, uma doença emergente transmitida por carrapatos em humanos (WORMSER, 2016). Desde então, casos de HGA têm sido relatados na Europa e América do Norte (THOMAS et al., 2009). Os sinais clínicos da HGA são caracterizados por febre, dor de cabeça, mialgia e mal-estar, mas a doença pode ser mais grave quando a infecção ocorre em indivíduos imunocomprometidos ou em indivíduos que apresentem coinfeção com outros hemoparasitos (KOCAN et al., 2015).

Anaplasma capra foi inicialmente identificado em 31% (37/120) das amostras de sangue de cabras assintomáticas localizadas no norte da China em 2012. A espécie recém descoberta foi considerada um patógeno emergente e é filogeneticamente distinta de outras espécies de *Anaplasma*. A doença causa sintomas inespecíficos, como febre, dor de cabeça, mal-estar, erupção na pele e calafrios. Ainda, é caracterizada por causar elevada concentração de aminotransferase hepática, leucopenia e trombocitopenia (LI et al., 2015). A presença de *A.*

capra foi determinada por *nested* PCR em 547 amostras de sangue coletadas de cabras e ovelhas de 24 condados distribuídos em 12 províncias da China. A caracterização molecular de isolados de *A. capra* em ovinos e caprinos foi obtido com base em quatro marcadores genéticos convencionais (genes 16S rRNA, *gltA*, *groEL* e *mSP4*). *Anaplasma capra* foi identificado em 75 de 547 animais, com uma prevalência geral de 13,7%. Os isolados de *A. capra* identificados de animais, carrapatos e de pacientes humanos possuem as mesmas características moleculares, sugerindo que este organismo poderia ser uma ameaça aos animais e aos seres humanos (YANG et al., 2017). Importante destacar que, até o momento, não há relato de *A. capra* no Brasil.

3.2.3 *Ehrlichia*

A erliquiose é uma doença infecciosa emergente causada pelo gênero *Ehrlichia*, pertencente à ordem Rickettsiales e à família Anaplasmataceae. Inclui espécies de riquetsias que são encontradas dentro de vacúolos citoplasmáticos parasitando leucócitos dos animais e do homem (LOSOS, 1986). Relatada pela primeira vez na Argélia, em 1935 (DONATIEN; LESTOQUARD, 1935), atualmente é considerada um problema de saúde pública em regiões tropicais e subtropicais (ZHANG et al., 2017).

As espécies de *Ehrlichia* são classificadas de acordo com o tipo celular que ela parasita em forma monocítica ou forma granulocítica. A forma monocítica inclui as espécies que infectam monócitos, como *E. chaffeensis*, *E. canis* e espécies relacionadas. Já na forma granulocítica encontram-se as espécies que infectam granulócitos (*E. ewingii*) (COHN, 2003).

A transmissão da riquetsia ocorre por carrapatos, nos quais há a multiplicação da *Ehrlichia* em células intestinais e nas glândulas salivares, não ocorrendo transmissão transovariana. Já no hospedeiro definitivo, os microorganismos multiplicam primeiramente em granulócitos ou monócitos formando vacúolos derivados da membrana plasmática na qual se multiplicam (RIKIHISA, 2010).

A prevalência da erliquiose em ovinos ainda é desconhecida em muitos locais. Poucos são os países que realizaram estudos com o objetivo de avaliar a relevância dessa riquetsia em seus rebanhos. Na China, Qiu et al. (2016) analisaram 2.240 amostras de sangue de ruminantes domésticos para *Ehrlichia* spp. por meio da PCR e foi detectado o DNA do agente em ovelhas (1,8%; 2/111), cabras (1,1%; 3/270) e bovinos (3,6%; 65/1830), mas não em búfalos (0/29). Ainda na China, Ge et al. (2016) realizaram o levantamento da prevalência de *Ehrlichia* spp. em 100 cabras e ovelhas por PCR, não obtendo nenhum resultado positivo. Em 2017, Zhang et al. descreveram o primeiro relato clínico de infecção por *Ehrlichia* em cabras infestadas por

carrapatos. O estudo foi realizado em Wuhan, China. Por meio da análise de sinais clínicos, bioquímica sérica, histopatologia e PCR, 24 cabras foram diagnosticadas com erliquiose. Não há dados disponíveis na literatura acerca da erliquiose em ovinos no Brasil.

3.2.4 *Babesia*

A babesiose é considerada, por muitos autores, a principal doença causada por patógenos transmitidos por carrapatos aos ovinos. Apresenta como agente etiológico um protozoário pertencente à ordem Piroplasmida e à família Babesiidae que se desenvolve nos eritrócitos do hospedeiro vertebrado. O agente é transmitido por carrapatos e pode ser causada pelas espécies *Babesia ovis*, *Babesia motasi* e *Babesia crassa*. Esses parasitos são comuns em regiões tropicais e subtropicais do mundo (UILENBERG, 2001), não tendo descrição no Brasil. *Babesia ovis* é altamente patogênica, causando infecções graves que são caracterizadas por febre, anemia, icterícia e hemoglobinúria. As taxas de mortalidade em hospedeiros suscetíveis variam de 30 a 50%. Já a patogenicidade da *B. motasi* não é alta, sendo considerada moderadamente virulenta. Em contraste, *Babesia crassa* não é patogênica (FRIEDHOFF, 1997; HASHEMI-FESHARKI, 1997).

A idade do animal está diretamente relacionada com a suscetibilidade à babesiose. Cordeiros com idade inferior a 3 meses são resistentes a infecções agudas, o que é possível devido aos altos títulos de anticorpos colostrais adquiridos por meio da imunidade passiva. Neste contexto, em áreas consideradas endêmicas, a fim de estabelecer a estabilidade enzoótica, é aconselhável que os cordeiros sejam expostos à *B. ovis*. O contato precoce dos animais com o protozoário permite a produção de anticorpos, elevando a resistência a possíveis reinfecções (HABELA et al., 1990; YERUHAM et al., 1995; YERUHAM et al., 1998).

Uma infecção experimental conduzida por Rahbari et al. (2008) foi realizada com o objetivo de avaliar a patogênese da infecção por *B. ovis*. Com esse intuito, foram utilizados 18 ovinos, com idade variando de 4-6 meses. Seis animais esplenectomizados e oito animais não esplenectomizados receberam $5,2 \times 10^8$ eritrócitos parasitados com *B. ovis*. Os demais animais foram mantidos como grupo controle. Importante destacar que uma semana antes do início do estudo, amostras de sangue de todos os animais foram coletadas e analisadas por meio de esfregaços sanguíneos com o objetivo de comprovar a negatividade para o patógeno em estudo. Os resultados mostraram que todos os animais desenvolveram febre concomitante com a parasitemia, que ocorreu dentro de 2-4 dias após a inoculação (dpi). Os sinais clínicos da doença foram graves e incluíram vários graus de anorexia, apatia, anemia, icterícia moderada e

hemoglobinúria. Nos animais com o baço, a temperatura normalizou no quarto dia após o pico de hipertermia e a parasitemia foi diminuindo durante o curso da doença em quatro casos. No entanto, nos casos que tiveram sinais clínicos graves, os animais morreram. A parasitemia atingiu 7% em ovinos esplenectomizados no 7 a 8 dpi; em animais com baço intacto, a parasitemia foi muito menor e atingiu no máximo 1%. Em ambos os grupos infectados, a contagem de glóbulos vermelhos, hematócrito e concentração de hemoglobina caíram logo após o aparecimento de parasitemia. Os rins e os pulmões foram os órgãos mais afetados pela infecção experimental por *B. ovis*.

O diagnóstico da babesiose ovina em infecções agudas pode ser realizado com base nos sinais clínicos e por meio de exame microscópico pela observação de esfregaços sanguíneos (GUO et al., 2002). Entretanto, vale ressaltar que o exame microscópico apresenta baixa sensibilidade, podendo desencadear resultados falso negativos (ALMERIA et al., 2001). Métodos sorológicos são frequentemente utilizados, mas carecem de especificidade (PASSOS et al., 1998). As técnicas moleculares são mais sensíveis e específicas se comparadas com as demais, o que as tornam um excelente método diagnóstico (ALHASSAN et al., 2005; ALTAY et al., 2005; NAGORE et al., 2004; SCHNITTGER et al., 2003).

A prevalência da babesiose é estimada em vários países, uma vez que é uma enfermidade com grande importância econômica para a ovinocultura, reduzindo potencialmente a produção dos animais em regiões tropicais e subtropicais (MEHLHORN; SCHEIN, 1985). Um estudo conduzido no norte da Espanha avaliou, por PCR, 320 ovinos aparentemente saudáveis. O inquérito demonstrou uma alta taxa de babesiose subclínica, 64,7% (NAGORE et al., 2004). Na Turquia, a determinação da soroprevalência foi realizada em Afyon. Amostras de soro foram coletadas de 204 ovelhas, bem como confeccionados esfregaços sanguíneos dos mesmos animais. Os soros foram testados quanto à presença de anticorpos para *B. ovis* por ELISA. Os esfregaços de sangue foram corados com solução de corante Giemsa 5% e foram examinados microscopicamente. Os anticorpos contra *B. ovis* foram detectados em 106 das 204 ovelhas (51,96%). Sob exame microscópico, *B. ovis* foi detectado em 1 das 204 ovelhas (0,49%) (ÇIÇEK et al., 2004). Ainda na Turquia, 2.000 ovelhas foram selecionadas aleatoriamente em 132 rebanhos de ovinos. A presença de anticorpos específicos contra *B. ovis* foi diagnosticada por RIFI. Um total de 843 (42,15%) as amostras de soro foram consideradas positivas (EKICI et al., 2012). A relevância da babesiose nos rebanhos ovinos brasileiros é completamente desconhecida, visto que carecem estudos com este objetivo.

3.2.5 *Theileria*

A teileriose ovina é uma importante doença nas regiões tropicais e subtropicais que pode ser causada pela *Theileria lestoquardi*, *Theileria sergenti*, *Theileria ovis* e *Theileria separata*, pertencente à ordem Piroplasmida e à família Theileriidae (AL-AMERY; HASSO, 2002; GUO et al., 2002; JIANXUN; HONG, 1997). Dentre os agentes citados, a *T. lestoquardi* é a única considerada altamente patogênica para os ovinos (HOOSHMAND-RAD; HAWA, 1973; UILENBERG, 1981).

Anteriormente conhecida como *Theileria hirci*, a *T. lestoquardi* é o agente etiológico da teileriose maligna, doença economicamente importante, uma vez que causa elevada morbidade e mortalidade em ovinos (UILENBERG, 1997). *Rhipicephalus*, *Hyalomma* e *Haemaphysalis* foram os gêneros de carrapatos incriminados como vetores (MORZARIA, 1998; TIAN et al., 2014; UILENBERG, 2006). Entre os sinais clínicos pode-se destacar febre, linfadenopatia, debilidade, anemia e icterícia. A forma aguda é a mais comum, mas as formas subaguda e crônica também podem ocorrer (AL-AMERY; HASSO, 2002; RAO et al., 1991).

Em outros países, muitos estudos sobre a prevalência da teileriose em ovinos vem sendo realizado. Na Turquia, de 218 amostras de sangue ovino submetidas à PCR na busca por *Theileria* spp., 90 (41,2%) foram positivas, revelando uma alta prevalência nas áreas de estudo (AKTAŞ et al., 2005). No Paquistão, 219 amostras de ovelhas foram analisadas por meio de esfregaços sanguíneos. A prevalência de teileriose foi de 3,2% (7/219) (IRSHAD et al., 2010). Já no Sudão, 315 amostras de ovelhas foram analisadas pela prevalência de anticorpos, por meio da RIFI. 16,2% (51/315) apresentaram resultado positivo para anticorpos anti-*Theileria* (SALIH et al., 2003). No Irã, 250 amostras de ovelhas foram analisadas por PCR, 32,8% (82/250) foram positivas para *Theileria* spp. (ZAEEMI et al., 2011).

No Brasil, estudos sobre a teileriose são escassos e seu impacto no rebanho ovino brasileiro é desconhecido. Recente pesquisa realizada por Mongruel et al. (2020), objetivou investigar infecções relacionadas à anemia em um rebanho de ovinos, na cidade de Bandeirantes, estado do Paraná, sul do Brasil. Foram submetidas à PCR 42 amostras de sangue ovino e os resultados mostraram que todas os animais foram negativos para *Theileria* spp.. Mais estudos são necessários a fim de avaliar a prevalência dessa enfermidade em todo rebanho brasileiro.

3.2.6 *Trypanosoma vivax*

Trypanosoma vivax é um protozoário pertencente à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, da sessão Salivaria, subgênero Duttonella, tipicamente cinetoplástico, medindo entre 20 a 26 µm de comprimento, apresentando um único flagelo livre (GARDINER, 1989). Originário da África, onde é transmitido de forma biológica por moscas do gênero *Glossina* (HOARE, 1972), o parasito adaptou-se à transmissão mecânica, disseminando-se para locais em que não há seu vetor (JONES; DÁVILA, 2001; OSÓRIO et al., 2008). Foi diagnosticado no Brasil, pela primeira vez, em 1946, no Pará (SHAW; LAINSON, 1972), e, rapidamente, espalhou-se pelo país.

Trypanosoma vivax afeta ungulados silvestres e domésticos e é altamente patogênico para bovinos e pequenos ruminantes (BATISTA et al., 2011; MELO et al., 2011). É responsável por grandes perdas econômicas na pecuária leiteira, relacionadas principalmente com a mortalidade de animais adultos, abortos e redução de produção de leite (ABRÃO et al., 2009).

Para o diagnóstico do parasito, pode-se utilizar técnicas diretas, sendo estas parasitológicas, como a técnica de Woo ou do microhematócrito (WOO, 1970), exames de amostras de sangue fresco entre lâmina e lamínula (gota fresca) (BRENER, 1962), esfregaços sanguíneos convencionais, técnica de *buffy coat* ou moleculares, como a PCR e Amplificação Isotérmica Mediada por *Loop* (LAMP) (CADIOLI et al., 2015). Vale destacar que, segundo Fidelis Junior et al. (2019), os métodos moleculares apresentam maiores taxas de detecção que os métodos parasitológicos. Entre os métodos indiretos, merecem destaque a RIFI e ELISA (CADIOLI et al., 2012; SAMPAIO et al., 2015).

Muitos trabalhos estão disponíveis na literatura abordando a relação dos bovinos com o *T. vivax*, sendo comprovada a susceptibilidade desses animais à tripanossomose. Por outro lado, no que tange a interação do *T. vivax* com os pequenos ruminantes, poucos são os estudos disponíveis. Dessa forma, Batista et al. (2006) objetivaram, por meio de um estudo, determinar a patogenicidade e os sinais clínicos associados à infecção por *T. vivax* em ovinos infectados experimentalmente. O autor utilizou quatro ovinos da raça Santa Inês, inoculando-os por via intravenosa 1mL de sangue contendo $1,85 \times 10^5$ tripomastigotas. Acompanhando o curso da infecção nesses animais, o autor destacou duas fases: a fase aguda, que persistiu por aproximadamente duas semanas e foi caracterizada por parasitemia e febre alta; e a fase crônica, caracterizada por temperatura normal e parasitemia baixa ou ausente. Anemia, leucopenia com linfocitose e ausência de ganho de peso foram observados, também, durante a fase crônica. O eritrograma dos animais revelou acentuada queda na contagem de hemácias, no hematócrito e

nos teores de hemoglobina, indicando que os animais desenvolveram intensa anemia que persistiu durante todo o período experimental. A anemia provocada por *T. vivax* é considerada multifatorial, sendo atribuída à hemólise intra e extravascular, diminuição ou inibição da eritropoiese e hemorragias (HOLMES, 1987). A leucopenia com linfocitose foi a principal característica do leucograma na fase crônica da doença nos animais (BATISTA et al., 2006).

Em outro estudo, Batista et al. (2009) investigaram o papel do *T. vivax* sob a mortalidade e abortos em ovinos e caprinos no semiárido brasileiro, onde ocorreram surtos relatados anteriormente em bovinos. Foram amostradas aleatoriamente 177 cabras e 248 ovelhas em quatro fazendas no estado da Paraíba em maio e outubro de 2008. Os animais foram selecionados por meio da positividade na técnica de *buffy coat* e PCR. Os animais infectados manifestaram apatia, mucosas pálidas, linfonodos aumentados, fraqueza, perda de peso, opacidade da córnea, cegueira e aborto. Alguns animais apresentaram a doença aguda e grave, com os níveis mais elevados de parasitemia e febre, que muitas vezes resultavam em morte. Estes animais gravemente doentes exibiram perda de peso progressiva e tiveram os menores valores de volume de células compactadas. Este achado demonstrou, pela primeira vez, que ovelhas e cabras, que são os animais mais importantes da região semiárida do Brasil, podem ser gravemente afetadas pela infecção por *T. vivax*.

Galiza et al. (2011) também relataram um surto induzido por *T. vivax* em ovelhas em uma propriedade localizada na Paraíba. Das 306 ovelhas presentes na propriedade, 240 apresentaram sinais clínicos e 216 morreram. Os sinais clínicos incluíram anorexia, letargia, anemia, pelagem áspera, perda de peso, edema submandibular, aborto e, em alguns casos, sinais neurológicos. O protozoário foi identificado por esfregaço sanguíneo e por PCR. Após o tratamento, nenhum parasito foi detectado nos testes diagnósticos. Bovinos e búfalos que compartilhavam a pastagem com as ovelhas também estavam infectados, mas permaneceram assintomáticos. Acredita-se que o *T. vivax* foi introduzido na propriedade por meio de búfalos assintomáticos que foram comprados. A transmissão provavelmente ocorreu de forma mecânica, por meio de moscas hematófagas, e também iatrogenicamente.

Em Minas Gerais, o primeiro relato de *T. vivax* ocorreu em 2008, em um bovino na cidade de Igarapé (CARVALHO et al., 2008). Desde então, a doença passou a ser relatada em vários locais do estado, gerando graves prejuízos econômicos. Meneses (2016) determinou a prevalência sorológica da enfermidade avaliando 2.185 propriedades distribuídas em sete regiões mineiras: 1. Noroeste, Norte e Nordeste; 2. Leste; 3. Central; 4. Zona da Mata; 5. Sul e Sudoeste; 6. Alto Paranaíba; 7. Triângulo Mineiro. Amostras de soro de um animal proveniente de cada rebanho foram submetidas à RIFI para a detecção de anticorpos anti-*T. vivax*. A

soroprevalência das propriedades para tripanossomose bovina no estado foi 2,38%. O resultado permitiu observar que a prevalência foi baixa, no entanto, a doença já se encontrava distribuída homogeneamente em todo o estado. No que tange aos ovinos, a prevalência da enfermidade em Minas Gerais ainda é desconhecida.

Medidas preventivas são indispensáveis para evitar os grandes danos causados pelo *T. vivax*. A compra de animais pelas propriedades deve ser feita de forma cautelosa e, quando realizada, é fundamental a pesquisa por hemoparasitos antes da introdução dos novos animais. Devido a capacidade de transmissão mecânica por moscas, o controle destas é essencial (JONES; DÁVILA, 2001). Além disso, a utilização de agulhas compartilhadas não higienizadas entre os animais é responsável por uma elevada disseminação do *T. vivax* entre os animais. Assim, o uso individual de agulhas ou a adequada higienização destas é indispensável.

Entre as medidas de controle para a tripanossomose nas áreas não endêmicas da América do Sul pode-se destacar o uso de drogas tripanocidas (PEREGRINE, 1994), sendo os fármacos circulantes considerados eficazes o diaceturato de diminazeno (WHITELAW et al., 1988) e cloreto de isometamidium (PEREGRINE, 1994). Neste contexto, deve-se destacar que há aproximadamente 60 anos não são desenvolvidos novos medicamentos contra o *T. vivax*. Assim, o risco de desenvolvimento de resistência às drogas atuais é crescente (CHITANGA et al., 2011).

3.3 *Neospora caninum*

Neospora caninum é um protozoário intracelular obrigatório, pertencente à ordem Eucoccidiida e à família Sarcocystidae, conhecido mundialmente por causar grandes perdas reprodutivas em rebanhos bovinos, ocasionando mortalidade neonatal e abortos (ANDERSON et al., 2000; DUBEY, 2003). A neosporose foi descrita pela primeira vez em cães, em 1984 (BJERKAS et al., 1984). Os primeiros diagnósticos envolviam cães apresentando sinais clínicos neurológicos e musculares. A descrição do cão como hospedeiro definitivo do *N. caninum* ocorreu somente em 1998, quando foi comprovada a capacidade do protozoário em desenvolver a fase sexuada de seu ciclo nesses animais, os quais, por sua vez, eliminam oocistos nas fezes (DUBEY, 2003). Diferentes espécies de pássaros e mamíferos, como bovinos, bubalinos e ovinos, são considerados hospedeiros intermediários (DUBEY; SCHARES, 2011).

As formas infectantes conhecidas de *N. caninum* são os taquizoítos, os cistos teciduais contendo os bradizoítos e os oocistos, que são eliminados no ambiente pelas fezes do hospedeiro definitivo. Os taquizoítos e os cistos teciduais são os estágios encontrados nos

hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 2002). Os cistos teciduais são encontrados, principalmente, no sistema nervoso central, mas, tecidos extraneurais, especialmente músculos, podem conter os cistos (DUBEY et al., 2004). O estágio ambientalmente resistente do parasito, o oocisto, é excretado na forma não esporulada, ocorrendo a esporulação em até 24 horas (LINDSAY et al., 1999). Todos os três estágios infecciosos de *N. caninum* estão envolvidos na transmissão do parasito. Os carnívoros provavelmente são infectados pela ingestão de tecidos contendo bradizoítos e os herbívoros provavelmente são infectados pela ingestão de alimentos ou água potável contaminados por oocistos esporulados. A transmissão transplacentária pode ocorrer quando os taquizoítos são transmitidos para o feto durante a gestação (DUBEY et al., 2007).

A neosporose ovina se destaca por ser responsável por abortos, morte embrionária, malformação fetal e nascimentos de cordeiros fracos (ALMEIDA, 2004). Desde que Dubey e Lindsay (1990) descreveram *N. caninum* em um cordeiro naturalmente infectado, o número de notificações de neosporose ovina elevou notavelmente em todo o mundo. Em diferentes estudos, anticorpos para *N. caninum* foram detectados: 1,1% - 8,3% das ovelhas no oeste do Irã (EZATPOUR et al., 2013; GHAREKHANI; HEIDARI, 2014), 27,7% no Paquistão (NASIR et al., 2012), 2,1% na Turquia (GOKÇE et al., 2015), 10,3% na China (LIU et al., 2015), 16,8% na Grécia (ANASTASIA et al., 2013) e 3% na Argentina (HECKER et al., 2013).

No Brasil, estudos sobre a soroprevalência da neosporose ovina por meio de infecção natural apresentaram uma ampla gama de resultados, indo de taxas de menos de 10% (FIGLIUOLO et al., 2004) para taxas de 30% (AGUIAR et al., 2004; ANDREOTTI et al., 2009) em ovelhas assintomáticas. Em Alagoas, Faria et al. (2010) analisaram 26 rebanhos ovinos, dos quais coletou amostras de sangue de 343 animais. Questionários epidemiológicos foram aplicados em cada rebanho para identificar os fatores de risco associados à neosporose. Trinta e três animais (9,6%) testaram positivo para anticorpos anti-*N. caninum*. Quatorze rebanhos (53,8%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Os fatores de risco identificados foram o tamanho da propriedade (menor ou igual a 30 ha) e fonte de água (poços + municipal + cursos d'água). Já Machado et al. (2011) realizaram um estudo em São Paulo, objetivando estabelecer a soroprevalência e os fatores de risco associados à neosporose em ovelhas e em cães. Foram coletadas 1.497 amostras de sangue de ovelhas e 42 de cães que coabitaram com ovelhas de 16 fazendas. A soroprevalência obtida das ovelhas foi de 8,0% e dos cães foi de 4,8%. As variáveis estatisticamente relacionadas à soropositividade para *N. caninum* em ovinos foram: represas como abastecimento de água, presença de outros canídeos domésticos e presença de problemas reprodutivos.

No estado de Minas Gerais, Andrade et al. (2012) determinaram a prevalência e os fatores de risco associados à infecção por *N. caninum* em amostras de soro de 488 ovelhas provenientes de 63 fazendas em 63 municípios. Soros de 64 ovelhas apresentaram anticorpos anti-*N. caninum*. Nenhuma associação significativa foi encontrada entre a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e os fatores de risco avaliados nas fazendas. Já Salaberry et al. (2010) verificaram a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em 12 rebanhos de ovinos do município de Uberlândia, Minas Gerais. Foram analisadas 334 amostras de sangue e, em cada propriedade, aplicou-se um questionário epidemiológico para avaliar os fatores de risco envolvidos na transmissão. A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos foi de 8,1%. Houve diferença estatística significativa para rebanhos com problemas de aborto associados à presença de anticorpos anti-*N. caninum*.

Um trabalho conduzido por Expósito et al. (2020) objetivou buscar mais informações sobre a patogênese e a transmissão da neosporose ovina. Para isso, realizou a análise sorológica de 13 ovelhas prenhes naturalmente infectadas com *N. caninum*. Todas as ovelhas foram eutanasiadas após a detecção de um aumento acentuado no nível de anticorpos específicos anti-*N. caninum*. A transmissão vertical foi confirmada em 11 ovelhas por detecção do parasito em pelo o menos um feto. Nem todos os fetos mostraram lesões patológicas microscópicas, mas encefalite multifocal não purulenta foi o principal achado. Ademais, nove das 11 ovelhas positivas com transmissão vertical apresentaram lesões nos placentomas (principalmente focos necróticos multifocais) e o parasito detectado por PCR em oito das 11 placentas. Os placentomas mostraram um aumento do número de linfócitos T CD3+ e macrófagos, avaliados por imuno-histoquímica, juntamente com uma regulação positiva de IFN- γ , IL-10, IL-4, TNF α , IL-2 e IL-18. IL-17. Ainda nesse sentido, um recente estudo realizado por Júnior et al. (2020), avaliou, por meio da RIFI e PCR, a transmissão transplacentária de *N. caninum* em até cinco gerações de cabras leiteiras naturalmente infectadas. Foram analisadas 95 amostras de soro de animais positivos, das quais 93 continham anticorpos anti-*N. caninum* (97,8%). Títulos de anticorpos anti-*N. caninum* variaram (aumentando ou diminuindo) na prole. No entanto, com um aumento no número de gerações de cabras, a prole tendeu a ter títulos mais baixos no dia do nascimento. Distúrbios reprodutivos, como abortos, natimortos ou retenção fetal ocorreram em uma taxa de 10,4%. O autor conclui que a infecção por *N. caninum* persiste por gerações em cabras infectadas congenitamente.

3.4 *Toxoplasma gondii*

A toxoplasmose, doença zoonótica causada pelo protozoário intracelular *Toxoplasma gondii*, foi descrita em ovinos pela primeira vez por Hartley et al. (1954) e, posteriormente, descrita em vários países. Felídeos são os hospedeiros definitivos, sendo o gato doméstico (*Felis catus domesticus*) o principal hospedeiro. Uma gama de mamíferos é considerada hospedeiros suscetíveis e podem ser infectados com *T. gondii* por transmissão transplacentária de taquizoítos, ingestão de tecidos de animais contendo cistos infecciosos com bradizoítos e por ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados (com esporozoítos) (DUBEY; BEATTIE, 2010).

Os ovinos são um dos hospedeiros intermediários mais suscetíveis a infecção aguda (HILL; DUBEY, 2013). A toxoplasmose ovina implica na possibilidade da infecção de seres humanos através da ingestão de cistos em carne ovina mal cozida, tanto no Brasil (BONAMETTI et al., 1997) como em outros continentes (ALMERIA; DUBEY, 2020; DAWSON et al., 2020). Além disso, também ocorrem grandes perdas econômicas, uma vez que pode ocasionar reabsorção embrionária, mumificação fetal, aborto, natimorto e morte neonatal (JONES et al., 2000). Perdas devido à toxoplasmose durante a prenhez afetam 1,4 - 3,9% dos rebanhos ovinos em todo o mundo, causando perdas econômicas devido, principalmente, a abortos (FREYRE et al., 1999). Na Espanha, Hurtado et al. (2001) observaram abortos causados pela infecção por *T. gondii* em 16,9% das ovelhas estudadas; na Itália, Massala et al. (2007) observaram ocorrência de abortos em 18,1%; no Texas, Edwards e Dubey (2013) também relataram abortos em 57% das ovelhas, e no Irã; Partoandazanpoor et al. (2020) observaram 8,3% de abortos associados a *T. gondii*. No Brasil, estudos soropidemiológicos em rebanhos ovinos em diferentes regiões relataram soroprevalência variando de 7% no Paraná a 60,8% em Fernando de Noronha, Pernambuco (COSTA et al., 2012). No estado de Minas Gerais, 40 em cada 100 ovelhas prenhas abortadas no último mês de gestação ou com natimortos foram diagnosticadas com *T. gondii* por meio de sinais clínicos, sorologia, histopatologia, imunohistoquímica e PCR (GABARDO et al., 2013).

A transmissão transplacentária de *T. gondii* pode ser classificada em duas formas: exógena e endógena. Transmissão exógena ocorre quando a fêmea é infectada durante a gestação e taquizoítos cruzam a placenta, infectando assim o feto. Por outro lado, a transmissão endógena é o resultado da reativação de uma infecção crônica, isto é, bradizoítos diferenciam em taquizoítos, os quais atravessam a placenta infectando o feto (TREES; WILLIAMS, 2005). Santos et al. (2016) realizaram estudos sobre a transmissão transplacentária em ovinos no

Brasil. Por meio de infecções experimentais, os autores detectaram que todos os 25 cordeiros, nascidos de 20 ovelhas previamente infectadas e reinfetadas durante diferentes fases da gestação, tinham anticorpos anti-*T. gondii* ao nascimento. Neste contexto, importante destacar que a placenta das ovelhas, classificada como sindesmocorial, impede a passagem de proteínas séricas ao feto, incluindo imunoglobulinas. Portanto, a imunidade humoral adquirida passivamente em ovelhas ocorre através do colostro e não via transferência transplacentária de anticorpos (TIZARD, 2019). Anticorpos produzidos pelas ovelhas contra patógenos são adquiridos pelos recém nascidos somente após a ingestão de colostro nas primeiras horas de vida (SILVA et al., 2010). Assim, animais com altos títulos de anticorpos anti-*T. gondii* após o nascimento e antes da amamentação foram infectados congenitamente.

Um estudo conduzido por Costa et al. (2021) no semiárido brasileiro avaliou a transmissão transplacentária de *T. gondii* em ovelhas naturalmente infectadas. Amostras de sangue foram coletadas de 55 ovelhas prenhes e de seus descendentes, anteriormente a ingestão do colostro. As amostras foram obtidas 48 horas e 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias após o nascimento. Quatro das 30 ovelhas positivas (13,3%) tiveram descendentes positivos para anticorpos anti-*T. gondii* antes da ingestão de colostro, comprovando a transmissão congênita. Os títulos de anticorpos do colostro diminuíram a cada semana e apenas 20% dos cordeiros continuaram a apresentar anticorpos até 56 dias após o nascimento.

A busca pelos fatores de risco associados à toxoplasmose deve ser realizada a fim de se adequar as medidas de prevenção e controle da enfermidade nos rebanhos. Assim, estudos recentes foram realizados em diferentes países. No Líbano, El Safadi et al. (2019) observaram 42% de ovinos soropositivos. Animais com mais de 1 ano de idade foram significativamente mais infectados por *T. gondii* que cordeiros (<1 ano). Na China, Yan et al. (2020) observaram soropositividade de 15,43%. Os fatores de risco para toxoplasmose foram idade (>1 ano), sexo (machos) e manejo (confinamento). No México, Suazo-Cortez et al. (2020) observaram 35,9% de animais soropositivos. Idade, raça e manejo foram identificados como fatores de risco para toxoplasmose.

No Brasil, Andrade et al. (2013) realizaram a busca pelos fatores de risco em rebanhos ovinos localizados no Rio Grande do Norte, Brasil. Para isso, utilizaram 930 amostras de soro oriundas de ovelhas e as testou por ELISA para avaliar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* e associar com os fatores de risco. A prevalência estimada foi de 22,1%. Entre os ovinos soropositivos, 18,1% apresentavam anticorpos IgG de baixa avidéz, o que sugere a ocorrência de toxoplasmose aguda nos rebanhos. Os fatores de risco para toxoplasmose em ovelhas foram: presença de gatos; idade dos animais, com adultos apresentando maior chance de infecção e o

uso de água corrente, caracterizando a existência de transmissão por oocistos esporulados de *T. gondii* no ambiente. Em 2016, Rêgo et al., realizaram um estudo com o mesmo objetivo, mas no Piauí, Brasil. Das 623 amostras de soro de ovelhas analisadas por ELISA, 56,2% (350/623) apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*. Os autores destacaram que os fatores de risco estavam relacionados ao sistema de criação extensivo, presença de mais de dois gatos na propriedade e canídeos domésticos e selvagens com acesso à água disponível para o rebanho. Estudos realizados em Minas Gerais, por sua vez, apresentam resultados diversos entre si. Em Uberlândia, a prevalência estimada foi de 75% (116/155) (ROSSI et al., 2011). Já em Uberaba a prevalência encontrada foi de 57,6% (144/250) (BASSI et al., 2013). Dorneles et al. (2020) conduziram um grande estudo com amostras de 21 rebanhos de todo o estado de Minas Gerais. Seus resultados mostraram que 10,46% (62/594) das amostras apresentaram resultado positivo e que em 71,43% (15/21) dos rebanhos houve a detecção de anticorpos.

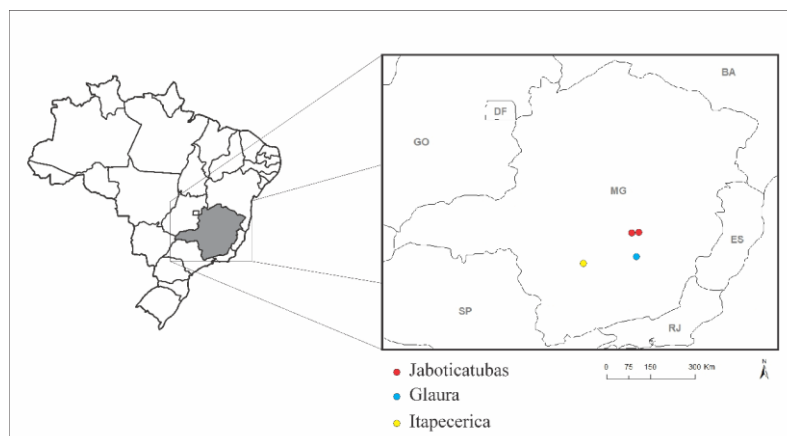
4 MATERIAL E MÉTODOS

A dissertação está inserida em um trabalho já em andamento intitulado “Caracterização Zoonosológica e Soroepidemiológica da Ovinocultura Leiteira Comercial”, aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob o número de protocolo 87/2020 (Anexo 1).

4.1 Áreas de estudo

O estudo foi realizado em três municípios do estado de Minas Gerais: Glaura, Itapecerica e Jaboticatubas (Figura 3). O distrito do município de Ouro Preto, Glaura, localiza-se na latitude $20^{\circ} 17' 48''$ sul e na longitude $43^{\circ} 38' 39''$ oeste, macrorregião central do estado de MG. Localizado a aproximadamente 73 km da capital mineira, Belo Horizonte. Possui uma população de cerca de 1.600 habitantes. O clima predominante é o tropical de altitude característico das regiões montanhosas, com verões amenos e úmidos e invernos frios e secos. Itapecerica localiza-se na latitude $20^{\circ} 28' 22''$ sul e na longitude $45^{\circ} 07' 33''$ oeste. É um município pertencente à macrorregião do centro-oeste mineiro, localizado a aproximadamente 180 km de Belo Horizonte. Possui uma população de cerca de 22.000 habitantes. O clima da região é o tropical de altitude. Jaboticatubas localiza-se na latitude $19^{\circ} 30' 50''$ sul e na longitude $43^{\circ} 44' 42''$ oeste, macrorregião central do estado de MG. É um município pertencente à região metropolitana de Belo Horizonte, localizado a aproximadamente 63 km da capital mineira. Possui uma população de cerca de 17.200 habitantes. O clima da região é tropical de altitude.

Figura 3 – Localização das propriedades onde as coletas foram realizadas



Fonte: Adaptado de IBGE. Pontos inseridos por meio do *software* CorelDraw.

4.2 População e amostragem do estudo

Foram alvo do estudo propriedades de ovinos leiteiros com perfil comercial do estado de Minas Gerais. Para se enquadrar nesse perfil, as propriedades deveriam possuir responsável técnico, rebanho maior ou igual a 50 matrizes, reprodutor puro de origem (PO) registrado e gerar renda e/ou ter viabilidade financeira. O contato com as propriedades foi realizado pela Professora Aurora Maria Guimarães Gouveia (DMVP, EV/UFMG) com o responsável técnico que atua nas propriedades.

O tipo de amostragem utilizado no estudo foi a amostragem por conveniência. Amostras de conveniência são aquelas nas quais os elementos da população são escolhidos de acordo com sua disponibilidade em participar do estudo ou do interesse do pesquisador (SCHEAFFER et al., 1996). O número total de amostras analisadas foi de 270. A estratificação das amostras coletadas por propriedade está descrita no Quadro 1.

Quadro 1 – Estratificação das amostras coletadas por propriedade

Nome da propriedade	Localização	Total de amostras
Propriedade 01	Itapecerica – MG	71
Propriedade 02	Jaboticatubas – MG	48
Propriedade 03	Jaboticatubas – MG	55
Propriedade 04	Glaura – MG	96
Total		270

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 Coletas

As coletas foram realizadas entre os meses de fevereiro a outubro de 2020 (Propriedade 01: fevereiro; Propriedade 02: setembro; Propriedade 03: outubro; Propriedade 04: outubro) em ovinos com idade superior a seis meses de vida, predominantemente da raça Lacaune, de ambos os sexos. Dos animais amostrados ($n = 270$), realizou-se avaliação de mucosas, busca por ectoparasitos (Figura 4B), confecção de esfregaço sanguíneo periférico por punção de capilar em ponta de orelha e coleta de sangue total por meio de punção da veia jugular em tubo do tipo *vacutainer* contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Figura 4A). No transporte, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo reciclável até chegar ao Laboratório de Protozoologia Veterinária do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), onde foram separadas alíquotas de sangue total e alíquotas de plasma, bem como realizada a confecção de

esfregaço sanguíneo de sangue total. As amostras de sangue e plasma foram congeladas a -20°C até o momento da realização dos testes moleculares e sorológicos.

Figura 4 – Coletas sendo realizadas a campo. 4A – Coleta de sangue por meio de punção da veia jugular em tubo do tipo *vacutainer* contendo EDTA. 4B – Coleta de moscas com o auxílio de um puçá

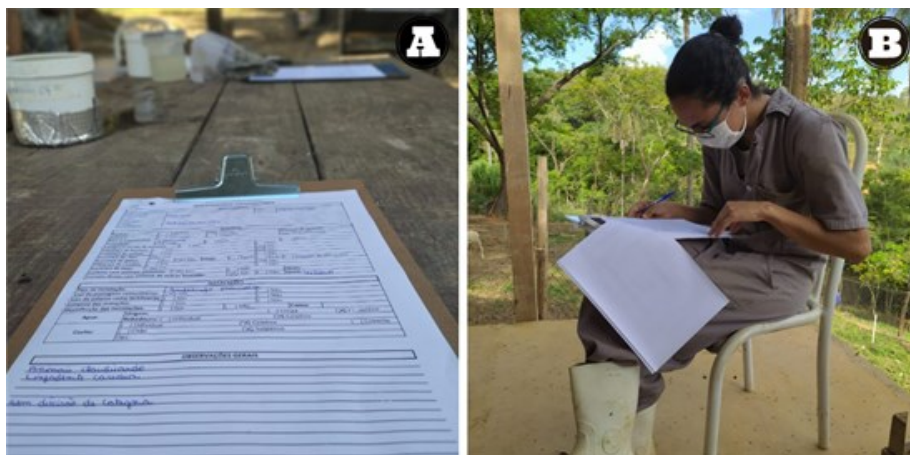


Fonte: acervo pessoal.

4.4 Questionário zoonosológico

O questionário zoonosológico, ferramenta de coleta de dados epidemiológicos, foi aplicado em todas as propriedades visitadas (Figura 5). O questionário apresenta perguntas que tangem possíveis fatores de risco para a ocorrência de hemopatógenos, *T. gondii* e *N. caninum* nos animais. O material é dividido em alguns tópicos: identificação da propriedade, informações do rebanho, instalações, sanidade e reprodução (Anexo 2).

Figura 5 – Aplicação do questionário zoonosológico. 5A – Questionário zoonosológico aplicado na propriedade. 5B – Questionário zoonosológico sendo preenchido na propriedade



Fonte: acervo pessoal.

4.5 Ectoparasitos

Os ectoparasitos foram armazenados em solução de álcool 70% em frascos devidamente nomeados. A identificação taxonômica foi realizada com auxílio de chaves dicotômicas de acordo com Tuff (1977) para piolhos e Barros-Battesti et al. (2006) para carrapatos.

O aparelho bucal das moscas capturadas foi analisado e somente moscas hematófagas seriam consideradas para identificação.

4.6 Análises laboratoriais

4.6.1 Locais de realização das análises laboratoriais

As análises parasitológicas em amostras sanguíneas e as análises moleculares foram realizadas Laboratório de Protozoologia Veterinária, ICB. As análises sorológicas para *T. gondii* foram realizadas no Laboratório Toxoplasmose, ICB. Já a contagem de ovos por grama de fezes realizada no Laboratório da Clínica de Ruminantes, Escola de Veterinária.

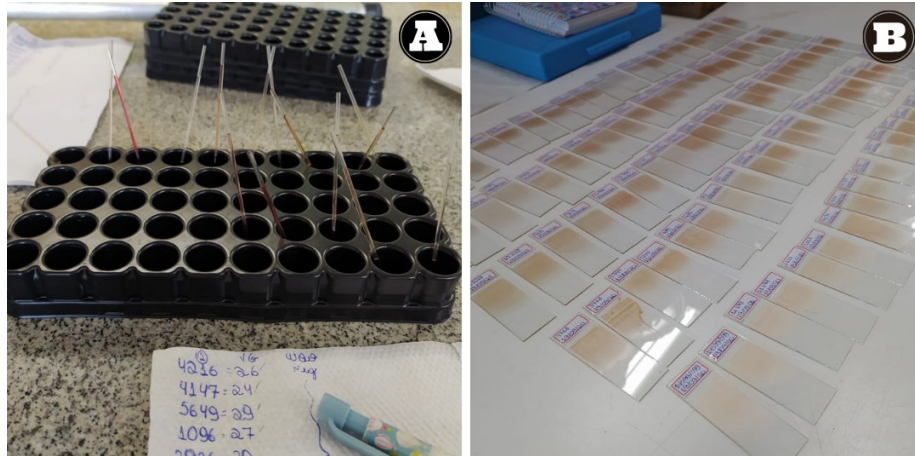
4.6.2 Análises parasitológicas em amostras sanguíneas

Para o diagnóstico morfológico de hemopatógenos foi realizada a confecção de esfregaços sanguíneos convencionais de sangue total e de sangue periférico (ponta de orelha). Ainda, foi confeccionado esfregaços da camada obtida pela centrifugação do capilar, denominada *buffy coat* ou esfregaço leucoplaquetário (MURRAY et al., 1977). Todas as lâminas foram coradas com Panótico rápido (Laborclin, Pinhais, PR, Brasil) ou Giemsa (Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil) e secas a temperatura ambiente (Figura 6B). Posteriormente, as lâminas foram observadas ao microscópio óptico Olympus BX40, com objetiva de imersão, no aumento de 100X para procura de hemopatógenos intra e extracelulares.

A técnica de centrifugação de hematócrito, também denominada técnica de Woo (WOO, 1970), é um método parasitológico direto utilizado para o diagnóstico de *Trypanosoma* spp.. Para sua execução, três quartos de um tubo capilar foram preenchidos com o sangue a ser testado (Figura 6A), selando-se a extremidade com plasticina e centrifugando-se a 12.000 g por 5 minutos em uma centrífuga de hematócrito. O capilar foi então examinado ao microscópio óptico Olympus BX40 no aumento de 20X (BONNET et al., 2015). Ademais, durante sua

execução, foi determinado o Volume Globular (VG) do animal, obtendo-se informação sobre o *status* da anemia (NANTULYA, 1990). O exame de Woo e de VG foram realizados em três das quatro fazendas amostradas, já que a coleta na primeira propriedade (Propriedade 01 – Itapecerica/MG) foi realizada anteriormente ao estabelecimento do presente trabalho.

Figura 6 – Testes parasitológicos sendo realizado em laboratório. 6A – preenchimento de capilares com sangue total para a leitura do VG e do Woo. 6B – esfregaços sanguíneos de sangue total



Fonte: acervo pessoal.

4.6.3 Análises moleculares

4.6.3.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada utilizando-se um volume de 300 µl das amostras de sangue total com EDTA por meio do kit de purificação Wizard® Genomic DNA Purification (PROMEGA), de acordo com as instruções do fabricante.

4.6.3.2 Reação em cadeia da polimerase – PCR

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Protozoologia Veterinária, ICB. O termociclador automático (Bio-Rad T100™ *Thermal Cycler*®) foi utilizado para amplificar o DNA extraído. Foi realizada a PCR convencional e a *nested* PCR (*nPCR*), que consiste em duas reações de PCR da mesma amostra para aumentar a sensibilidade. As reações foram preparadas utilizando-se 1 µl da solução com DNA molde, 5,0 µl de GoTaq® Master Mix (1X), 0,4 µl de cada iniciador (10 µM, cada) e 3,6 µl de água livre de nucleases (MiliQ)

(PROMEGA CORPORATION, 2016). Os controles positivos de cada reação estão indicados no Quadro 2. Como branco da reação para indicação de não contaminação de todas as reações, foi utilizada água bidestilada miliQ. As temperaturas e tempos de cada ciclo das reações estão descritas na Tabela 1 e as sequências de iniciadores que foram utilizados para a identificação dos patógenos, por sua vez, estão descritas no Quadro 3.

Os produtos amplificados na PCR foram corados com GelRed™ (Biotium, Hayward, CA, USA), utilizando 5 µl de produto e 2 µl do corante, aplicados em gel de agarose a 1% e submetidos a eletroforese com um campo elétrico de 100 milivolts e 400 amperes por 30 minutos. O tampão utilizado no gel e na solução de corrida foi o TAE (Tris-acetato-EDTA) a 0,5 X. O padrão de peso molecular aplicado foi o 1Kb Plus DNA Ladder™ (Invitrogen). Após a eletroforese, o gel foi analisado sob luz ultravioleta utilizando transluminador.

Quadro 2 – Controles positivos utilizados em cada reação da PCR

Reação	Controle positivo
<i>A. marginale/ A. ovis</i>	Amostra de sangue de bovino experimentalmente infectado com <i>A. marginale</i>
<i>A. marginale</i>	Amostra de sangue de bovino experimentalmente infectado com <i>A. marginale</i>
<i>Babesia/ Theileria</i>	Amostra de sangue de bovino experimentalmente infectado com <i>B. bigemina</i>
<i>Theileria</i> spp.	Amostra de sangue de ruminante naturalmente infectado com <i>Theileria</i> spp, confirmado por sequenciamento nucleotídico seguido de análises filogenéticas
<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> granulócitos e plaquetas	Cultivo de <i>A. phagocytophilum</i> em células IDE8
<i>Ehrlichia</i> monócitos	Amostra de sangue de cão naturalmente infectado com <i>Ehrlichia canis</i> , confirmado por sequenciamento nucleotídico seguido de análises filogenéticas
<i>Mycoplasma</i> spp.	Amostra de sangue de ruminante naturalmente infectado com <i>Mycoplasma</i> spp. confirmado por sequenciamento nucleotídico seguido de análises filogenéticas
<i>Mycoplasma ovis</i>	Amostra de sangue de ruminante naturalmente infectado com <i>Mycoplasma ovis</i> confirmado por sequenciamento nucleotídico seguido de análises filogenéticas.
<i>Neospora caninum</i>	Cultivo de <i>Neospora caninum</i> em células Hela
<i>Trypanosoma vivax</i>	Amostra de sangue de caprino experimentalmente infectado com <i>T. vivax</i>

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 1 – Condições de tempo e temperatura aplicadas para amplificação de DNA dos agentes em estudo

Passo	Reação <i>A. marginale</i> / <i>A. ovis</i> / <i>Babesia</i> spp./ <i>Theileria</i> spp./AG/ AM/			Reação <i>T. vivax</i>			Reação <i>Mycoplasma</i> spp.			Reação <i>Mycoplasma</i> <i>ovis</i>			1ª reação <i>Neospora</i> <i>caninum</i>			2ª reação <i>Neospora</i> <i>caninum</i>		
	C	M	T	C	M	T	C	M	T	C	M	T	C	M	T	C	M	T
Desnaturação inicial	1x	5	94	1x	3	95	1x	10	94	1x	4	95	1x	5	94	1x	5	94
Desnaturação	29x	1	92	34x	1	94	39x	0,5	95	39x	1	94	30x	0,5	94	25x	0,5	94
Anelamento	1x	1	54	1x	1	56	1x	0,5	60	1x	0,5	52	1x	0,5	55	1x	0,5	54
Extensão	1x	1,5	72	1x	1	72	1x	0,5	72	1x	1,5	72	1x	0,5	72	1x	0,5	72
Extensão final	1x	8	72	1x	10	72	1x	10	72	1x	5	72	1x	5	72	1x	5	72

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: C – Ciclo; M – Minutos; T – Temperatura (C°).

Quadro 3 – Sequência de iniciadores que foram utilizados para identificação dos agentes em estudo

Especificidade	Sequência: sentido 5'→3'	Iniciador	Alvo	Produto (pb)	Referência
<i>A. marginale</i>/ <i>A. ovis</i>					
Primeira reação	GGGAGCTCCTATGAATT ACAGAGATTGTTTACCC GGATCCTTAGCTGAACA GGAATCTTGC	MSP45 MSP43	<i>msp4</i>	872	de la FUENTE et al. (2008)
Segunda reação	CGCCAGCAAACCTTTTCC AAAATATGGGGACACAG GCAAAT	AnapF AnapR	<i>msp4</i>	294	SILVEIRA et al. (2012)
<i>A. marginale</i>					
Primeira reação	GCTTTACGCCGCCGCT GCGCCGCATTACAACGC AACCGTTGA	MSP1aP MSP1a3	<i>msp1a</i>	2000	de la FUENTE et al. (2001)
Segunda reação	TGTGGTTGTCCTCTTTCC CGATGTCACCGCCAAAC ATGAAGTCGACAA	MSP1aNF MSP1aNR	<i>msp1a</i>	800	BASTOS et al. (2009)
<i>Babesia</i>/ <i>Theileria</i>					
Primeira reação	CGGGATCCAACCTGGTT GATCCTGCCCGAATTCC TTGTTACGACTTCTC	RIB-19 RIB-20	18S rRNA	1700	ZHALER et al. (2000)
Segunda reação	ACCTCACCAGGTCCAGA CAGGTACAAAGGGCAGG GACGTA	BAB-rumF BAB-rumR	18S rRNA	430	SILVEIRA et al. (2011)
Anaplasmataceae parasito de granulócitos e plaquetas					

Primeira reação	CACATGCAAGTCGAACG GATTATTCTTCCGTTAAG AAGGATCTAATCTCC	GE3a GE10r	16S rRNA	932	MASSUNG et al. (1998)
Segunda reação	AACGGATTATTCTTTATA GCTTGCTGGCAGTATTA AAAGCAGCTCCAGG	GE9f GE2	16S rRNA	546	MASSUNG et al. (1998)
<i>Ehrlichia monocítica</i>					
Primeira reação	ACGGACAATTGCTTATA GCCTTACAACCTTTATGG ATTAGCTAAAT	NS16SCH1F NS16SCH1R	16S rRNA	1195	KAWAHARA et al. (2009)
Segunda reação	GGGCACGTAGGTGGACT AGCCTGTTAGGAGGGAT ACGAC	NS16SCH2F NS16SCH2R	16S rRNA	443	KAWAHARA et al. (2009)
<i>Mycoplasma spp.</i>					
Reação única	ATACGGCCCATATTCCT ACGTGCTCCACCACTG TTCA	HBTF5 HBTR5	16S rRNA	595	CRIADO- FORNELIO et al. (2003)
<i>Mycoplasma ovis</i>					
Reação única	ATGCAAGTCGAACGAGT AGATGATACTTTCTTTCA TAGTTTG	16SFw 16SRv	16S rRNA	1341	GRAZZIOTI N et al.(2011)
<i>Neospora caninum</i>					
Primeira reação	GGGTGAACCGAGGGAGT TCCTCCCAATGCGAACG AA	Np7 Np4	Nc5	275	YAMAGE et al. (1996)
Segunda reação	GGGTGAACCGAGGGAGT TCAGTCAACCTACGTCTT C	Np7 Np6	Nc5	227	YAMAGE et al. (1996)
<i>Theileria spp.</i>					
Reação única	AAGCCATGCATGTCTAA GTATAAGCTTTTGAATA ATTCACCGGATCACTCG	NBab1F 18S RevTB	18S rRNA	1600	HE et al. (2012)
<i>Trypanosoma vivax</i>					
Reação única	TTAAAGCTTCCACGAGT TCTTGATGATCCAGTATT AGAATTCCCAGGAGTTC TTGATGATCCAGTA	DTO 155 DTO 156	Domínio catalítico gene da Catepsina L	500	LIMA et al. (1994)

Fonte: elaborado pelo autor.

4.7 Sequenciamento nucleotídico

As amostras positivas, após a segunda reação de PCR, foram purificadas pelo *QIAquick Gel Extraction Kit* (QIAGEN), segundo as recomendações do fabricante, ou através de Polietilenoglicol (PEG) (www.icb.ufmg.br/lbem). Posteriormente, cada amostra purificada foi

submetida a uma nova eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com GelRed, para confirmação da purificação das amostras, além da dosagem em Nanodrop (BioTek Epoch™).

As amostras foram, então, submetidas à leitura, no sequenciador automático capilar pela empresa ACTGene Análises Moleculares, Rio Grande do Sul, Brasil.

Cada um dos *amplicons* foi sequenciado duas vezes, sendo uma vez com o iniciador direto, e uma com o reverso, totalizando duas sequências/amostra, o que permitiu a formação de sequências consenso ou *contigs*.

As sequências consenso para cada amostra resultaram do alinhamento das duas sequências, com o auxílio dos programas do site <http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/> e MEGA 6.0 *software* (TAMURA et al., 2013).

4.7.1 Análise das sequências em bancos de dados

As sequências obtidas do sequenciador foram analisadas quanto à qualidade, e os *Contigs* foram formados com o auxílio do programa “*Electropherogram quality analysis*”, desenvolvido pela Embrapa *Genetic Resource and Biotechnology* (<http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>). Em seguida, as sequências foram submetidas à procura de homologia com as sequências depositadas em banco de dados. Para isso, foi utilizado o programa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) BLASTN para nucleotídeos e BLASTX para proteínas (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Após a comparação no BLAST, as sequências analisadas foram caracterizadas em gênero ou espécie, de acordo com o grau de similaridade com os dados já depositados no *Genbank*.

4.8 Análises sorológicas para *T. gondii*

As análises sorológicas para *T. gondii* foram realizadas nas quatro propriedades. Entretanto, por ausência de material (soro) de três animais da Propriedade 01, o total de amostras submetidas ao ELISA foi de 267.

4.8.1 Ensaio de imunoabsorção enzimática – ELISA

Para a detecção de anticorpos IgG específicos anti-*T. gondii* utilizou-se o teste imunoenzimático (ELISA-IgG) indireto. O ELISA-IgG foi realizado segundo Clementino et al. (2007) com algumas modificações. O antígeno utilizado foi preparado a partir de taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* sonicados (Ultrasonic Homogenizer- 4710 Coler-Palmer Instrument) seguido de dosagem de proteínas pelo método de Lowry et al. (1951). As placas de poliestireno de 96 orifícios (SARSTED) foram sensibilizadas com 1 µg de proteína (em 100 µL) de suspensão de antígeno em cada poço, preparados previamente na concentração de 10 µg de proteína/mL de tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6). Seguiu-se incubação overnight a 4 °C.

No momento do uso o sobrenadante foi desprezado e a placa lavada duas vezes com solução salina contendo Tween 20 (SST). Após secagem das placas por inversão sobre papel de filtro absorvente, foi realizado o bloqueio com PBS-Caseína 2% a 37 °C por 30 minutos. Em seguida, a placa foi novamente lavada duas vezes com SST e sua secagem feita por inversão sobre papel de filtro absorvente.

Os soros a serem testados, os dois soros controle positivos e os seis soros controle negativos foram diluídos em PBS-T/Caseína 0,25% (PBS-Tween 20 à 0,05% + Caseína até 0,25%), na diluição de 1:100, e distribuídos 100 µL por orifício da placa, seguida da incubação a 37 °C por 45 minutos. Os soros foram ensaiados em duplicada.

Após este período de incubação, foram realizadas uma série de duas lavagens com SST. Foram adicionados a cada poço da placa 100 µL de conjugado anti-IgG de ovinos marcado com peroxidase (SIGMA, produto no A-3415) diluído a 1:1500 em PBS-T/Caseína 0,25%, e posteriormente incubada por 45 minutos a 37 °C. Após este período as placas foram lavadas, em uma série de quatro lavagens com SST. A reação foi revelada por adição de 100 µL do substrato (2 µg de o-phenilenodiamino (SIGMA) em 10 mL de solução de ácido cítrico e 2 µL de H₂O₂) por orifício. A reação foi interrompida após 20 minutos com 25 µL de H₂SO₄ (4 N) por poço e a leitura realizada em leitor de ELISA (BioTek Epoch™) com filtro de 490 nm. Foram utilizados como controles brancos, poços de cada placa, com antígeno, conjugado e substrato, sem soro.

O ponto de corte (*cut off*) para o ELISA foi a média de absorbância de seis amostras de soro de ovinos negativos para *T. gondii* (testados em cada placa) mais três desvios padrão. A média de absorbância dos soros testados em duplicata foi dividida pelo valor do ponto de corte de cada placa para determinar o índice de reatividade (I.R.). Soros com valores de I.R. ≥ 1,0

foram considerados positivos enquanto soros com I.R.<1,0 foram considerados negativos (RÊGO et al., 2016).

4.8.2 Teste de ELISA para avaliação da avidéz de anticorpos IgG

Todas as amostras positivas por ELISA-IgG indireto (I.R. \geq 1,0) foram submetidas ao ELISA para avaliar a avidéz dos anticorpos IgG específicos para *T. gondii*, de acordo com Andrade et al. (2013). Para avaliar a avidéz foi utilizada a uréia 6M como agente dissociante de ligações fracas do antígeno ao anticorpo. As placas foram sensibilizadas e lavadas como descrito para ELISA-IgG no tópico anterior. Após secagem das placas, os soros previamente diluídos em PBS-T/Caseína 0,25% (diluição 1:100), foram distribuídos nos poços da placa.

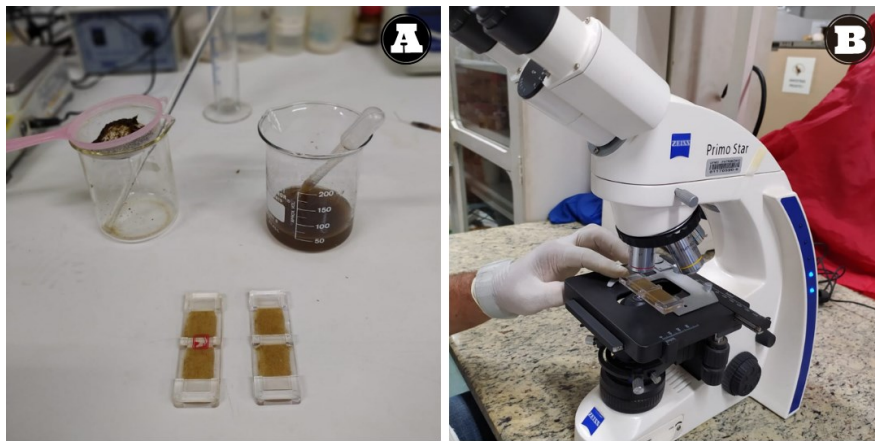
Os soros foram organizados em duas séries duplicadas na mesma placa, de tal forma que a metade da placa (colunas 1 a 6) foi uma réplica idêntica da outra metade (colunas 7 a 12). Após adicionar os soros, a placa foi incubada por 45 minutos a 37 °C. Em seguida, os soros foram desprezados e a placa foi submetida a uma série de quatro lavagens. A primeira lavagem foi realizada em todos os poços utilizando SST. Na segunda lavagem foram utilizadas duas soluções, uma composta por PBS-T/Caseína 0,25% a qual foi adicionada as colunas de 1 a 6 (100 μ L/poço), e outra composta por uréia 6M (em PBS-T/Caseína 0,25%), a qual foi adicionada as colunas de 7 a 12 (100 μ L/poço). Essa lavagem ocorreu sob agitação por 5 minutos. As outras duas lavagens também ocorreram sob agitação por 5 minutos, porém em todos os poços foi adicionada a solução PBS-T/Caseína 0,25%. Após as lavagens, foi adicionado em cada poço da placa 100 μ l do conjugado anti-IgG de ovinos marcado com peroxidase (SIGMA, produto no A-3415) diluído a 1:1500 em PBS-T/Caseína 0,25%. A partir da adição do conjugado o procedimento foi idêntico ao descrito anteriormente para o teste de ELISA convencional descrito anteriormente.

A avidéz do anticorpo IgG foi calculada como a razão entre a absorbância média para cada soro (previamente positivo) obtida nos poços tratados com uréia (AU), pela absorbância média dos poços não tratados com uréia (A) expressos em porcentagem: $AU/A \times 100$ (COZON et al., 1998). Segundo Suárez-Aranda et al. (2000), valores de avidéz de IgG \geq 50% indicam toxoplasmose crônica, enquanto valores $<$ 50% sugerem toxoplasmose recente.

4.9 Análise parasitológica de fezes

A análise parasitológica das fezes foi realizada segundo a Técnica de Gordon e Whitlock modificada (UENO; GONÇALVES, 1998). Duas gramas de fezes foram misturados com 28 mL de água filtrada. Após a mistura, o material foi coado. Desse conteúdo diluído, foram retirados 2mL e misturados em 2mL de solução hipersaturada de Sheater. A câmara de Mac Master foi preenchida (Figura 7A) e a leitura realizada em microscópio óptico no aumento de 10x (Figura 7B).

Figura 7 – Realização da análise parasitológica de fezes 7A – Preenchimento da câmara de Mac Master com a solução preparada (fezes+água+Sheater). 7B – Contagem dos ovos em microscópio óptico



Fonte: acervo pessoal.

4.10 Análise dos dados

Os resultados foram expostos de acordo com a frequência de positividade, apresentados em percentual. Com os dados dos questionários, os resultados dos testes moleculares, sorológicos, OPG, VG e presença/ausência de ectoparasitos, as associações entre as variáveis foram realizadas por meio do teste estatístico Razão de Verossimilhança. Contudo, em situações onde frequência foi igual a zero, foi utilizado o Teste Exato de Fischer. O nível de significância nas análises foi de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 População do estudo, questionário zoonitário e fatores de risco

Dos 270 ovinos pertencentes ao estudo, 257 eram fêmeas e 13 eram machos. Em relação a idade, 26 animais apresentavam entre 0 – 12 meses de vida, 39 animais entre 13 – 24 meses de vida e 139 animais idade superior a 24 meses de vida. Não foi possível obter a idade de 66 ovinos.

O questionário zoonitário foi aplicado em todas as propriedades e trouxe importantes informações sobre o manejo e possíveis fatores de risco para as enfermidades estudadas neste trabalho. Nos tópicos subsequentes tais informações são ponderadas e discutidas.

5.2 Ectoparasitos

A busca pelos ectoparasitos foi realizada em todos os animais pertencentes ao estudo. Em sua maioria, os ovinos analisados eram lanados, o que dificultou o encontro e a coleta dos ectoparasitos. Neste sentido, apenas na Propriedade 02, em dois animais, foram encontrados e coletados *Ctenocephalides felis felis* e *Amblyomma* spp. (Figura 8). A pulga foi encontrada na região torácica do ovino e o carrapato no pavilhão auricular. Importante destacar que ambos animais que possuíam os ectoparasitos foram detectados com *M. ovis* na PCR, como é discutido no Tópico 5.5.1.1. Além disso, houve associação significativa entre a presença de ectoparasitos na propriedade e a positividade para *Anaplasma* spp. ($p=0,005$) e para *Ehrlichia* monocítica ($p=0,000$).

Além da busca ativa, o questionário zoonitário indagava acerca do histórico da presença de carrapatos, sarnas, piolhos e pulgas nos ovinos. Resposta positiva foi obtida somente na Propriedade 02, que relatou já ter observado carrapatos e pulgas nos animais. Ainda, por meio do questionário, todas as quatro propriedades relataram não realizar nenhum controle de carrapatos, sarnas, piolhos e pulgas.

Figura 8 – Ectoparasitos encontrados nos ovinos da Propriedade 02. 8A – *Ctenocephalides felis felis*. 8B – Ninfa ingurgitada de *Amblyomma* sp.



Fonte: acervo pessoal.

Seja de forma direta ou indireta, as ectoparasitoses afetam a produção dos ovinos, ocasionando perdas devido a distúrbios nas condições fisiológicas dos animais, levando à redução no ganho de peso, queda na produção de leite e baixa qualidade/rendimento das carcaças. Ademais, os ectoparasitos apresentam a capacidade de transmitir patógenos, os quais acarretariam no adoecimento dos animais, intensificando as perdas produtivas (SEQUEIRA; AMARANTE, 2001).

As pulgas são ectoparasitos obrigatórios espécie-específicas, porém, na ausência do hospedeiro específico e estimuladas pela necessidade de realizar a hematofagia, podem espoliar hospedeiros alternativos (BEZERRA et al., 2009). Neste sentido, as pulgas não são incluídas como ectoparasitos de importância em ovinos, mas é crescente o número de relatos destes ectoparasitos nesta espécie (BEZERRA et al., 2009; BEZERRA et al., 2010; KAAL et al., 2006; ORTIZ et al., 2010). Já os carrapatos do gênero *Amblyomma* são considerados um dos principais transmissores de patógenos entre espécies animais. Seu parasitismo está associado a áreas periurbanas, rurais e silvestres (LABRUNA; PEREIRA, 2001). Na ovinocultura, geralmente o carrapato encontrado parasitando os animais é o *R. microplus*. Isso ocorre, na maioria das vezes, quando os ovinos e bovinos compartilham a mesma pastagem (BRITO et al., 2006). Entretanto, outras espécies de carrapatos são comumente relatadas parasitando ovinos (MADEIRA; PADOVANI, 2000).

No que tange a coleta de moscas por meio do puçá, apenas uma mosca foi coletada, porém, por meio da observação de seu aparelho bucal em microscópio, foi classificada como lambedora, não sendo relevante na transmissão de patógenos. O questionário zoonosológico indagava acerca do histórico da presença de moscas no ambiente. Resposta positiva foi obtida nas Propriedades 02, 03 e 04. Ainda, por meio do questionário, apenas a Propriedade 04 relatou realizar o controle de moscas por meio de limpeza do ambiente e esterqueira.

Altas infestações por moscas podem ocasionar graves perigos sanitários. Além do elevado estresse causado aos animais, as moscas são potenciais vetores biológicos ou mecânicos de agentes patogênicos, como, por exemplo, da rickettsia *A. marginale* e do protozoário *T. vivax* (JONES; DÁVILA, 2001; KOCAN et al., 2010). Dessa forma, o controle de moscas se faz necessário, prezando pela saúde dos animais e evitando prejuízos econômicos.

Diante do exposto, fica claro que há vetores mecânicos e/ou biológicos circulando nos rebanhos. Assim, considerando que muitos dos hemopatógenos são transmitidos por vetores hematófagos e que há a presença destes em algumas das propriedades, o diagnóstico de hemoparasitoses é esperado.

5.3 Análises em amostras sanguíneas

5.3.1 Análises de esfregaços sanguíneos e *Buffy coat*

Por meio da leitura dos esfregaços sanguíneos confeccionados de sangue periférico e de sangue total e *buffy coat* nenhum hemopatógeno foi encontrado. Vale destacar que há poucos relatos na literatura acerca do diagnóstico de hemopatógenos por meio de esfregaços sanguíneos. Entre os poucos encontrados, pode-se destacar o estudo conduzido por Abdullah et al. (2019), no Iraque, que objetivou diagnosticar hemopatógenos por meio de esfregaços sanguíneos em ovinos e bovinos. *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. e *Theileria* spp. foram os hemoparasitos detectados no estudo, sendo *Theileria* spp. a mais prevalente entre os bovinos, enquanto *Anaplasma* spp. foi o mais prevalente entre os ovinos. O diagnóstico em pequenos ruminantes de *Anaplasma* spp. por exame microscópico também foi realizado por Pulgarín et al. (2014), na Colômbia. Almeria et al. (2001) ressaltaram que o exame microscópico apresenta baixa sensibilidade, podendo desencadear em resultados falso negativos. Dória et al. (2016) destacaram que, além do diagnóstico errôneo, a baixa sensibilidade da técnica pode repercutir em falha no tratamento e na disseminação dos hemoparasitos. Dessa forma, testes com sensibilidade superior devem ser realizados, sejam eles moleculares ou sorológicos.

5.3.2 Volume globular e técnica de Woo

Outro teste parasitológico realizado foi a técnica de Woo, o qual é utilizado para o diagnóstico de *Trypanosoma* spp. Nenhuma amostra analisada apresentou resultado positivo.

Desquesnes e Tresse (1996) descreveram que a sensibilidade da técnica de Woo reduz consideravelmente quando a parasitemia está abaixo de 700 parasitos/ml. Assim, falhas no diagnóstico podem ocorrer devido a essa limitação da técnica. Por isso, para a confirmação do diagnóstico se faz necessária a realização de exames mais sensíveis.

A mensuração do volume globular foi realizada com o objetivo de avaliar o *status* da anemia dos animais. O hematócrito foi realizado em 199 amostras referentes as propriedades 02, 03 e 04.

O valor de referência de VG para os ovinos está presente no intervalo de 27% – 45% (JAIN, 1993; RADOSTITS et al., 2000). Das amostras analisadas, 43,71% (87/199) apresentaram resultado abaixo de 27%, enquanto 56,29% (112/199) apresentaram resultado dentro do intervalo de referência. Nenhuma amostra apresentou resultado de VG superior a 45%. O valor médio encontrado foi 27,54%. Não houve associação significativa entre VG<27% com a positividade para os hemopatógenos. Os dados relatados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Volume globular das amostras de sangue de ovinos do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

VG (%)	Amostras analisadas
< 27	43,71% (87/199)
27 – 45	56,29% (112/199)
> 45	0% (0/199)

Fonte: elaborado pelo autor.

Valor de referência de VG para ovinos: 27 - 45% (JAIN, 1993; RADOSTITS et al., 2000)

A anemia pode ser definida pela diminuição no número de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e do volume globular (FELDMAN et al., 2000). Por meio dos resultados apresentados, pode-se sugerir que 43,71% (87/199) dos animais envolvidos no estudo apresentavam-se anêmicos no momento da coleta. Analisando isoladamente as propriedades, a Propriedade 02 apresentou elevada percentagem de animais anêmicos (77,08%), seguida da Propriedade 03 (58,18%) e, por fim, da Propriedade 04 (28,12%) (Tabela 3). Buscando alguns dados no questionário zoonitário, a Propriedade 02 e 03 relataram diagnosticar frequentemente animais anêmicos pelo FAMACHA[®], sendo as propriedades que apresentaram maiores percentagens de animais com VG<27%. Neste sentido, vale destacar que as Propriedades 02 e 04 realizam o diagnóstico de tricostrongilídeos por meio do OPG, porém todas as três propriedades realizam o controle de tais agentes.

Tabela 3 – Volume globular das amostras de sangue de ovinos provenientes de três diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

VG	Amostras analisadas
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
< 27%	77,08% (37/48)
27% - 45%	22,91% (11/48)
> 45	0% (0/48)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
< 27%	41,81% (23/55)
27% - 45%	58,18% (32/55)
> 45	0% (0/55)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
< 27%	28,12% (27/96)
27% - 45%	71,87% (69/96)
> 45	0% (0/96)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

As causas principais de anemia são a perda sanguínea, a destruição eritrocitária e a diminuição da eritropoiese (FELDMAN et al., 2000). Na ovinocultura, a hemoncose, causada pelo *H. contortus*, é historicamente consolidada como a principal causa de anemia nos ovinos, podendo inviabilizar a cadeia produtiva da espécie (TAYLOR et al., 2017). Contudo, outras causas devem ser levantadas, sempre priorizando a associação com o diagnóstico laboratorial. Neste sentido, as hemoparasitoses são consideradas importante causa de anemia em muitas espécies, como nos bovinos (ADEMOLA; ONYICHE, 2013). Os resultados das análises moleculares realizadas em busca de hemopatógenos está descrito no tópico 5.5.1. Contudo, há causas de anemia de origem não infecciosa, as quais devem ser consideradas, como hemoglobinúria pós-parto, crise hemolítica associada à insuficiência hepática, intoxicação por chumbo, deficiências vitamínicas, entre outras (JONES et al., 2000).

Até o momento, não há trabalhos disponíveis na literatura associando anemia em ovinos à hemopatógenos. Em sua totalidade, os estudos relacionam às mucosas hipocoradas ou o VG <27% à positividade no exame OPG (KENYON; JACKSON, 2012; MAIA et al., 2015; VAN WYK; BATH, 2002). Entretanto, é importante ponderar que o subdiagnóstico de hemopatógenos é significativamente prevalente, uma vez que, historicamente, as hemoparasitoses são consideradas relevantes apenas para os bovinos. Além disso, deve-se destacar que há a possibilidade da associação entre a hemoncose e as hemoparasitoses, o que

pode agravar a anemia. Dessa forma, o diagnóstico de ambas enfermidades é extremamente importante.

5.4 Avaliação de mucosa

A avaliação da mucosa ocular foi realizada em todos os animais analisados, exceto da Propriedade 01. As mucosas, em virtude da delgada espessura da pele e grande vascularização, podem, muitas vezes, indicar o estado de saúde atual do animal. Esse simples exame revela a presença de enfermidades próprias (inflamação, tumores, edema), como também auxilia a inferir conclusões acerca da possibilidade de alterações que reflitam comprometimento do sistema circulatório ou a existência de doenças em outras partes do corpo (FEITOSA, 2008).

A coloração desejada de se encontrar ao exame clínico é rósea-clara. Contudo, a mesma depende de vários fatores, dentre os quais: quantidade e qualidade do sangue circulante, das trocas gasosas, da presença ou não de hemopatógenos, da função hepática adequada, da medula óssea e outros (FEITOSA, 2008).

Quando se avalia um paciente com palidez de mucosa, deve ficar estabelecido se a mudança de coloração é causada por hipoperfusão ou por anemia. Já a congestão de mucosas ocorre devido a um ingurgitamento de vasos sanguíneos, por processo infeccioso ou inflamatório, local ou sistêmico. A cianose, por sua vez, é uma coloração azulada da pele e das mucosas, causada pelo aumento da quantidade absoluta de hemoglobina reduzida no sangue. Por fim, a icterícia é o resultado da retenção de bilirrubina nos tecidos, e ocorre devido ao aumento da bilirrubina sérica acima dos níveis de referência (FEITOSA, 2008).

A avaliação da coloração das mucosas foi realizada em 199 ovinos referentes as propriedades 02, 03 e 04. Dos animais examinados, 82,41% (164/199) apresentaram mucosas normocoradas, 13,06% (16/199) apresentaram mucosas hiperêmicas e 4,52% (09/199) apresentaram mucosas hipocoradas. Nenhum animal apresentou mucosa cianótica ou ictérica. Os resultados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Coloração da mucosa dos ovinos analisados do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Coloração da mucosa	Animais analisados
Normocorada	82,41% (164/199)
Hipocorada	4,52% (09/199)
Hiperêmica	13,06% (26/199)
Cianótica	0% (0/199)
Ictérica	0% (0/199)

Fonte: elaborado pelo autor.

Analisando isoladamente as propriedades, as três apresentaram elevada percentagem de animais com a mucosa normocorada e baixa percentagem de animais com a mucosa hipocorada. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Coloração da mucosa dos ovinos provenientes de três diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Identificação	Amostras analisadas
<i>Propriedade 02 (N = 48)</i>	
Normocorada	95,83% (46/48)
Hipocorada	0% (0/48)
Hiperêmica	4,16% (02/48)
Cianótica	0% (0/48)
Ictérica	0% (0/48)
<i>Propriedade 03 (N = 55)</i>	
Normocorada	72,72% (40/55)
Hipocorada	1,81% (01/55)
Hiperêmica	25,45% (14/55)
Cianótica	0% (0/55)
Ictérica	0% (0/55)
<i>Propriedade 04 (N = 96)</i>	
Normocorada	81,25% (78/96)
Hipocorada	8,33% (08/96)
Hiperêmica	10,41% (10/96)
Cianótica	0% (0/96)
Ictérica	0% (0/96)

Fonte: elaborado pelo autor.

N: Número de ovinos avaliados.

Há alguns dados que merecem ser correlacionados e discutidos. É esperado que animais com baixo VG apresentem mucosas hipocoradas. Contudo, essa relação não foi observada no presente estudo. Das amostras analisadas, 43,71% (87/199) apresentaram VG menor que 27%,

indicando alto índice de animais anêmicos. Entretanto, apenas 4,52% (09/199) animais apresentaram mucosa hipocorada ao exame clínico. Nesse sentido, a falha no diagnóstico de anemia pela avaliação da coloração de mucosas é altamente prevalente e relevante. Um estudo conduzido por Coelho (2007) demonstrou que a avaliação deste parâmetro não é um bom indicador de anemia em bovinos. Ainda neste sentido, Radostits et al. (2000) destacaram que podem ocorrer graus consideráveis de anemia, sem alterações clínicas visíveis na sua coloração. Sendo assim, testes complementares se fazem necessários para assegurar a sanidade do rebanho.

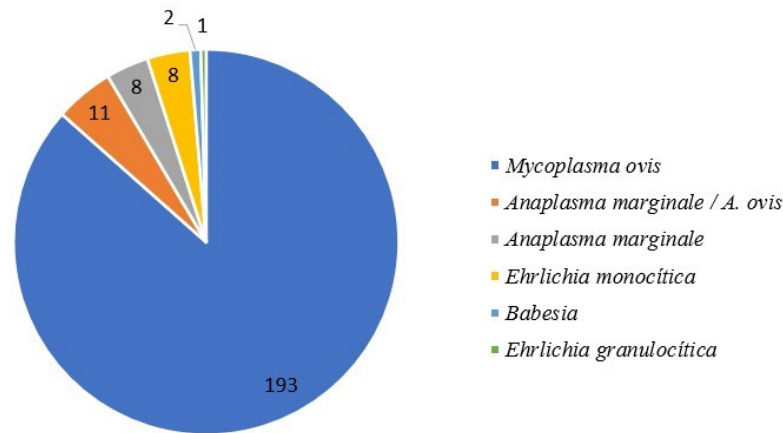
O método FAMACHA[®] é utilizado para o controle seletivo da hemonose em rebanhos ovinos. O exame se baseia na análise da coloração da mucosa ocular, classificando-a entre cinco graus. Os graus de coloração direcionam ou não para a vermifugação (EMBRAPA, 2010). Neste contexto e diante do exposto, pode-se inferir que muitos animais que são submetidos ao FAMACHA[®] podem ser diagnosticados erroneamente, uma vez que, como relatado neste estudo, nem sempre que o VG está abaixo do valor de referência a mucosa sofre alteração. Assim, a realização do exame de fezes é fundamental em busca de um diagnóstico mais assertivo.

5.5 Reação em Cadeia de Polimerase – PCR

5.5.1 Hemopatógenos

As 270 amostras foram submetidas à PCR para diversos hemopatógenos. O Gráfico 1 revela quais foram os resultados positivos encontrados. Os resultados por propriedade estão descritos nos tópicos subsequentes.

Gráfico 1 – Amostras positivas para hemopatógenos, por método molecular, em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020



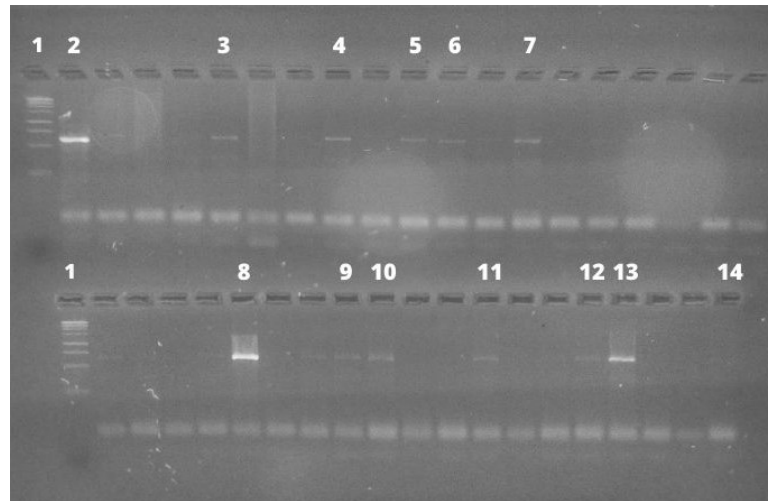
Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.1.1 *Mycoplasma* hemotrópico

A positividade dos ovinos analisados para *Mycoplasma* hemotrópico foi mensurada por meio da PCR por duas reações distintas: a primeira para triagem com alvo no gênero *Mycoplasma* e outra confirmatória com alvo na espécie *M. ovis*. A triagem foi realizada objetivando aumentar a possibilidade de detectar outras espécies de hemoplasmas. Os resultados em ambas análises foram os mesmos, ou seja, todas as amostras positivas para *Mycoplasma* spp. foram positivas para *M. ovis*. Assim, como as amostras positivas na PCR com alvo genérico deram todas positivas no específico, a espécie encontrada é o *M. ovis*.

Das 270 amostras estudadas, 71,48% (193/270) apresentaram resultado positivo. A Figura 9 apresenta alguns dos resultados obtidos. Poucos são os estudos presentes na literatura sobre a prevalência da micoplasmose nos rebanhos ovinos brasileiros. O primeiro relato de *M. ovis* em ovelhas brasileiras foi realizado recentemente por Souza et al. (2019), no Sul do país. Sua pesquisa demonstrou que 78,8% (26/33) das amostras analisadas eram positivas para *M. ovis*, valor muito semelhante ao encontrado no presente estudo. A alta positividade apresentada nos dois trabalhos mencionados sinaliza a necessidade de pesquisas mais amplas acerca das consequências da infecção por hemoplasmas nos ovinos. Sabe-se que o agente pode causar uma grande alteração hematológica nos animais, reduzindo significativamente o VG (DADDOW, 1979).

Figura 9 – Análise dos produtos da nPCR em gel de agarose 1% corado em Gel Red. *Primers*: HBTF5/HBTR5. 1- Peso molecular (banda alvo: 595 pb); 2- Controle positivo *Mycoplasma* spp.; 3 a 13- amostras positivas. 14- branco



Fonte: acervo pessoal.

Mycoplasma ovis é um patógeno zoonótico emergente com distribuição mundial, podendo causar anemia hemolítica, icterícia, baixo desempenho nos animais, edema submandibular e perda de peso (DADDOW, 1981). Assim, a investigação por tal patógeno nos rebanhos ovinos é de grande importância, primando pela saúde dos animais e evitando possíveis perdas econômicas. Importante destacar que, além do *M. ovis*, o *M. haemovis* também apresenta a capacidade de parasitar ovinos, mas ainda não há relatos no Brasil.

Analisando isoladamente as propriedades, as quatro apresentaram elevada percentagem de animais positivos para *Mycoplasma* e *M. ovis*, com resultados superiores a 60%. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 – Frequência de infecção por *Mycoplasma* hemotrópico e *Mycoplasma ovis* nos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	45 (63,38%)
Negativo	26 (36,62%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	35 (72,91%)
Negativo	13 (27,09%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	48 (87,27%)
Negativo	07 (12,73%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	65 (67,70%)
Negativo	31 (32,30%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

As rotas de transmissão do *M. ovis* podem ser por meio de carrapatos, pulgas, mosquitos e piolhos (AKTAS; OZUBEK, 2017; BERKENKAMP; WESCOTT, 1988; DADDOW, 1981; LAPPIN et al., 2006; SENEVIRATNA, 1973; SHAW et al., 2004; WOODS et al., 2005). Como relatado anteriormente, apenas na Propriedade 02 foram encontrados carrapatos e pulgas. Entretanto, não ter encontrado ectoparasitos nas demais propriedades não significa que os animais não estavam infestados, uma vez que os ovinos eram lanados, o que dificultou na busca ativa. Além disso, devemos considerar que as Propriedades 02, 03 e 04 relataram ter mosquitos/moscas no ambiente, o que também pode justificar a alta prevalência de micoplasmose nessas propriedades.

Outro ponto que merece destaque é a prática da reutilização de agulhas. As Propriedades 02 e 03 relataram fazer tal reuso. Houve associação significativa entre a positividade para *Mycoplasma* e o reuso de agulhas ($p=0,008$). Segundo a literatura, por meio do uso de agulhas com sangue contaminado é possível infectar um animal (WILLI et al., 2007). Dessa forma, essa prática deve ser evitada, a fim de reduzir a possibilidade dessa transmissão. De acordo com nosso conhecimento, este é o primeiro relato da associação de micoplasmose em ovinos e o reuso de agulhas.

5.5.1.2 Família Anaplasmataceae

5.5.1.2.1 *Anaplasma marginale/A. ovis*

Utilizando como alvo a proteína de superfície *msp4* de *A. marginale/A. ovis*, das 270 amostras estudadas, 4,07% (11/270) apresentaram resultado positivo. Poucas são as pesquisas disponíveis na literatura acerca da prevalência da anaplasmose em ovinos brasileiros. Dentre os poucos encontrados, pode-se destacar o estudo de Ramos et al. (2008), realizado em Pernambuco, Brasil. Analisou, por meio de teste sorológico, a presença de anticorpos anti-*Anaplasma* spp.. Dos 68 ovinos estudados, 16,17% (11/68) apresentaram resultado positivo. Os dados apresentados indicam que algumas espécies de *Anaplasma* que podem infectar ovinos estão presentes no Brasil, sendo necessário estudos mais aprofundados sobre as espécies e sobre a consequência e relevância dessa infecção nos ovinos.

Analisando isoladamente as propriedades, três apresentaram animais positivos para *Anaplasma*, com resultados inferiores a 12,5%. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 7.

Em busca de um diagnóstico mais específico, foi realizada a PCR com alvo *msp1a* de *A. marginale*. Das 270 amostras estudadas, 2,96% (08/270) apresentaram resultado positivo. Importante destacar que as oito amostras que aqui foram positivas, também positivaram na PCR com o *primer A. marginale/A. ovis*. Entre as possíveis causas das amostras terem apresentado resultado positivo na PCR com alvo *msp4* e resultado negativo na PCR com alvo *msp1a* pode-se destacar que a PCR com alvo *msp4* é mais sensível para diagnóstico quando comparada à PCR com alvo *msp1a*, além de uma possível infecção por *A. ovis*, apesar da não descrição no Brasil.

Tabela 7 – Distribuição da positividade por *Anaplasma* em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	03 (04,22%)
Negativo	68 (95,78%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	06 (12,50%)
Negativo	42 (87,50%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	02 (03,63%)
Negativo	53 (96,37%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	96 (100,0%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

Alguns pesquisadores já iniciaram a busca pelo diagnóstico da anaplasmosose em pequenos ruminantes, como Yousefi et al. (2017), que determinaram a prevalência de *A. marginale* em ovelhas e cabras no oeste do Irã. Foram analisadas 370 amostras de sangue por método molecular (PCR), sendo 206 amostras de ovelhas e 164 de cabras. As cabras foram todas negativas e 0,54% das ovelhas foram positivas, indicando que essa espécie animal é reservatório potencial para *A. marginale*. No Brasil, a primeira detecção molecular de *A. marginale* em pequenos ruminantes foi realizada em 2018, no Nordeste, por meio de PCR seguida de sequenciamento nucleotídico. Amostras de sangue (n = 403) de cabras foram analisadas por método molecular, resultando na primeira detecção brasileira de *A. marginale* (SILVA et al., 2018). Outro estudo realizado no Brasil investigou, por meio de exame sorológico, a ocorrência de *A. marginale* na Paraíba. Das 71 ovelhas, duas apresentaram resultado positivo (BARBOSA et al., 2021). Diante do exposto, pode-se sugerir que as ovelhas brasileiras podem estar infectadas com *A. marginale* e a consequência dessa infecção para a saúde dos animais permanece desconhecida.

Analisando isoladamente as propriedades, três apresentaram animais positivos para *A. marginale*, com resultados inferiores a 7%. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 8.

Tabela 8 – Distribuição da positividade por *Anaplasma marginale* em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	03 (04,22%)
Negativo	68 (95,78%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	03 (06,25%)
Negativo	45 (93,75%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	02 (03,63%)
Negativo	53 (96,37%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	96 (100,0%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

Muitos estudiosos acreditam que o pastoreio multiespécies possivelmente facilita a transmissão interespécies de patógenos, prática que facilita o compartilhamento de vetores biológicos e mecânicos (SILVA et al., 2018). Contudo, nenhuma das propriedades envolvidas neste estudo adotava o pastoreio multiespécies. Dessa forma, a transmissão possivelmente ocorreu por meio dos vetores biológicos ou mecânicos que circulavam entre os ovinos.

5.5.1.2.2 *Ehrlichia/Anaplasma* parasitos de monócitos, granulócitos ou plaquetas

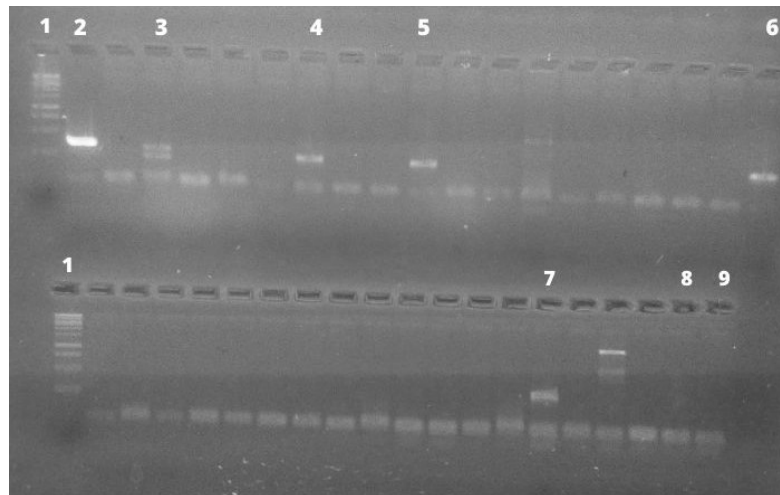
Das 270 amostras estudadas, 2,96% (08/270) apresentaram resultado positivo para *Ehrlichia* monocítica. A Figura 10 apresenta alguns dos resultados obtidos. Analisando isoladamente as propriedades, apenas duas apresentaram animais positivos. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de *Ehrlichia monocítica* dos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	71 (100,0%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	06 (12,50%)
Negativo	42 (87,50%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	55 (100,0%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	02 (02,08%)
Negativo	94 (97,92%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

Figura 10 – Análise dos produtos da nPCR em gel de agarose 1% corado em Gel Red. *Primers*: 1º reação: NS16SCH1F/NS16SCH1R; 2º reação: NS16SCH2F/NS16SCH2R. 1- Peso molecular (banda alvo: 443 pb); 2- Controle positivo *Ehrlichia canis*; 3 a 7- amostras positivas da Propriedade 02; 8- branco da 1º reação; 9- branco da 2º reação



Fonte: acervo pessoal.

No que se refere ao resultado para *Ehrlichia/Anaplasma* de granulócitos ou plaquetas, das 270 amostras estudadas, somente 0,38% (01/270) apresentou resultado positivo. Analisando isoladamente as propriedades, apenas uma apresentou animal positivo. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 10. Até o momento, não há dados disponíveis na

literatura acerca da erliquiose ou anaplasmose de células brancas ou plaquetas em ovinos no Brasil.

Tabela 10 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de *Ehrlichia/Anaplasma* de granulócitos ou plaquetas dos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	71 (100,0%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	01 (02,08%)
Negativo	47 (97,92%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	55 (100,0%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	96 (100,0%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

No Brasil, a *Ehrlichia* monocítica mais comum é a *E. canis*, que acomete principalmente cães, porém há relatos de *E. chaffeensis* em cervídeos (MACHADO et al., 2006; SILVEIRA et al., 2012). Recentemente, houve a descrição de *E. minasensis*, espécie monocítica que acomete bovinos. O isolado rickettsial foi obtido da hemolinfa de fêmeas ingurgitadas do carrapato *R. microplus*, em Minas Gerais (CABEZAS-CRUZ et al., 2016). Já no que se refere a *Ehrlichia* trombocítica, *Anaplasma platys* é a espécie mais comum parasitando cães e gatos, porém há relatos de espécies próximas filogeneticamente parasitando cervídeos norte-americanos (MUNDERLOH et al., 2003). Um estudo em cervídeos, no Brasil, utilizando os mesmos primers do estudo americano, detectou a positividade em *Mazama gouazoubira* (veado catingueiro) com similaridade intermediária entre *A. platys/A. phagocytophilum* (SILVEIRA et al., 2012). Neste sentido, o contato dos ovinos com ruminantes silvestres pode ser considerado um importante fator de risco, uma vez que há a possibilidade de compartilhamento vetorial. A única propriedade que relatou esse contato foi a Propriedade 03, já que os animais ficam livres a pasto, mas não houve nenhum resultado positivo nesta propriedade. Por fim, no que tange a Anaplasmataceae de granulócitos, *A. phagocytophilum* é o agente que merece destaque. É um

patógeno de importância zoonótica que afeta principalmente animais jovens, podendo ocasionar febre alta, anorexia, queda repentina na produção de leite e aborto em ovelhas (STUEN et al., 2013). No Brasil, o *A. phagocytophilum* já foi diagnosticado em cães (SANTOS et al., 2011) e cavalos (NOGUEIRA et al., 2017), mas não há relatos em ovinos.

O presente estudo revelou oito animais positivos para *Ehrlichia* monocítica e um animal positivo para *Ehrlichia/Anaplasma* de granulócitos ou plaquetas. Analisando os resultados por propriedade, a Propriedade 02 merece destaque, uma vez que apresentou seis animais positivos para *Ehrlichia* monocítica e um animal positivo para *Ehrlichia/Anaplasma* de granulócitos ou plaquetas. Conhecendo a epidemiologia da erliquiose, a transmissão da riquetsia ocorre por carrapatos. Neste sentido, apenas na Propriedade 02 foi encontrado carrapato no momento da coleta, bem como apresentava histórico de antigas infestações pelo ectoparasito. Importante destacar que houve associação estatística significativa entre a presença de ectoparasitos e a positividade para *Ehrlichia* monocítica ($p=0,000$). Assim, a presença de carrapatos parasitando os ovinos explica a positividade dos mesmos para erliquiose. O uso de iniciadores mais genéricos para investigação de agentes patogênicos em espécies em que não se tem muito conhecimento dos agentes circulantes torna-se interessante para aumentar a possibilidade da detecção de espécies ainda não descritas no hospedeiro ou na região geográfica, sendo esse o caso de ovinos brasileiros. Além disso, o sequenciamento nucleotídico é fundamental para conhecer quais são as espécies presentes no Brasil.

5.5.1.3 *Babesia* e *Theileria*

Para detecção de piroplasmídeos foi utilizado um primer genérico capaz de detectar infecção em ruminantes por espécies de *Babesia* e *Theileria*. Das 270 amostras estudadas, 0,74% (02/270) apresentaram resultado positivo. A Figura 11 apresenta alguns dos resultados obtidos. Até o momento, não há relato da infecção por esses agentes em ovelhas no Brasil. A positividade de dois animais é um achado muito relevante, uma vez que tanto a babesiose quanto a teileriose são importantes enfermidades, afetando gravemente os animais.

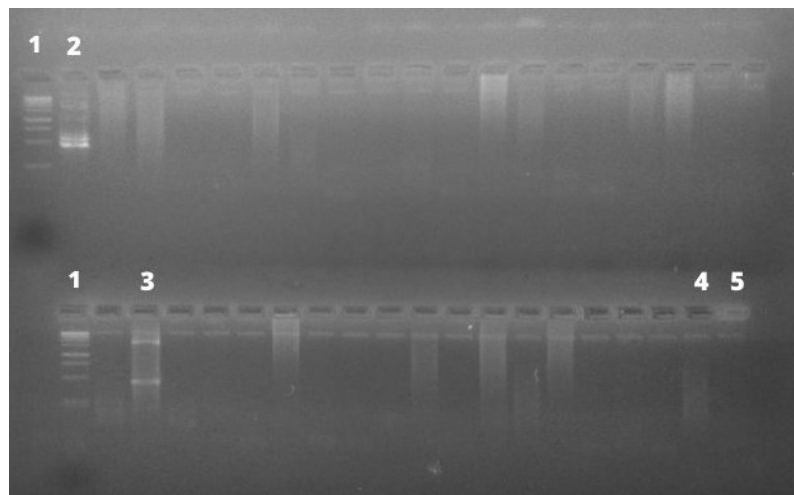
Analisando isoladamente as propriedades, apenas duas apresentaram animais positivos. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de *Babesia* e *Theileria* dos ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	71 (100,0%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	01 (02,08%)
Negativo	47 (97,92%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	00 (00,00%)
Negativo	55 (100,0%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	01 (01,04%)
Negativo	95 (98,96%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

Figura 11 – Análise dos produtos da nPCR em gel de agarose 1% corado em Gel Red. *Primers*: 1º reação: RIB-19/RIB-20; 2º reação: BAB-rumF/BABrumR. 1- Peso molecular (banda alvo: 430 pb); 2- Controle positivo *Babesia bigemina*; 3- amostra positiva; 4- branco da 1º reação; 5- branco da 2º reação



Fonte: acervo pessoal.

Por meio de um *primer* específico para o gênero *Theileria*, uma nova análise foi realizada com o objetivo de averiguar se alguma das duas amostras positivas anteriormente seriam positivas na PCR específica para teileriose. Das 270 amostras estudadas, 0% (0/270) apresentaram resultado positivo. O mesmo resultado foi encontrado por Mongruel et al. (2020), que em um estudo realizado no Paraná, Brasil, submeteu à PCR 42 amostras de sangue ovino e

os resultados mostraram que todas os animais foram negativos para *Theileria*. Vale destacar que o diagnóstico de *Theileria* já foi realizado em ruminantes brasileiros. Silveira et al. (2011) fizeram o primeiro relato da ocorrência de *Theileria cervi* e *Theileria* sp. em cervídeos, em Minas Gerais. Ainda, Silveira et al. (2016) relataram búfalos aquático asiáticos, no Pará, positivos para *Theileria*. As análises filogenéticas indicaram que as espécies encontradas foram intimamente relacionadas a *Theileria buffeli*, *T. orientalis* e *T. sinensis*. Neste sentido, a busca por esse hemopatógenos em ovinos deve continuar, uma vez que o agente circula entre os animais em território brasileiro.

Neste sentido, diante da negatividade para *Theileria*, pode-se sugerir que as duas amostras positivas apresentam DNA de *Babesia*. Dessa forma, o sequenciamento nucleotídico é fundamental, objetivando descrever as espécies de *Babesia* que estão circulando nos ovinos do Brasil.

5.5.1.4 *Trypanosoma vivax*

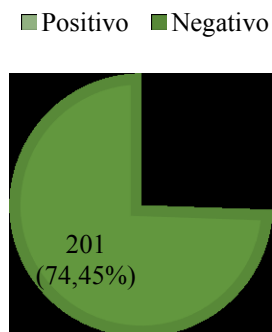
Das 270 amostras estudadas, 0% (0/270) apresentaram resultado positivo. Alguns poucos trabalhos presentes na literatura relatam surtos de tripanossomose em rebanhos ovinos (BATISTA et al., 2009; GALIZA et al., 2011). Vale ponderar que importantes fatores de risco estavam presentes nos surtos relatados, como o pastoreio multiespécies e a compra de animais de forma indiscriminada. Neste sentido, nenhuma propriedade que compõe o presente estudo apresentava fatores de risco relevantes, ou seja, não realizavam a compra de animais de forma indiscriminada, não adotavam o pastoreio multiespécies e não possuíam elevada infestação por moscas, vetores mecânicos do *T. vivax*. Importante ressaltar que apenas o rebanho da Propriedade 01 era totalmente fechado, ou seja, não compravam animais. As demais propriedades, em determinadas situações, realizavam a compra de animais de rebanhos conhecidos. O reuso de agulha era realizado nas Propriedades 02 e 03, sendo que a Propriedade 02 relatou realizar a desinfecção com álcool iodado e a Propriedade 03 com água quente. Além disso, uma prática comumente adotada nas propriedades é a tosquia, ato que retira a lã dos ovinos, visando a comercialização da mesma, bem como o fornecimento de conforto aos animais. Considerando que a tosquideira é utilizada em vários animais, podendo ocasionar lesões na pele com possíveis sangramentos, a não desinfecção do instrumental pode ser considerada um fômite em potencial (MOUNT et al., 2016). Todas as propriedades pertencentes ao estudo realizam a tosquia, entretanto, não há a informação sobre a desinfecção da tosquideira. Mas vale destacar que o procedimento é realizado por indivíduos experientes e

qualificados, o que ameniza a possibilidade de ferimentos e consequentes infecções. Diante do exposto, o adequado manejo adotado pelas propriedades pode justificar a negatividade dos animais para o protozoário *T. vivax*.

5.5.2 *Neospora caninum*

Das 270 amostras estudadas, 25,55% (69/270) apresentaram resultado positivo, como é demonstrado no Gráfico 2. Estudos sobre a soroprevalência da neosporose ovina por meio de infecção natural apresentaram uma ampla gama de resultados no Brasil, indo de taxas de menos de 10% (FIGLIUOLO et al., 2004) para taxas de 30% (AGUIAR et al., 2004; ANDREOTTI et al., 2009). Em Minas Gerais, a soroprevalência variou de 8,1% (SALABERRY et al., 2010) a 13,11% (ANDRADE et al., 2012), resultados inferiores aos encontrados no presente estudo. Essa discrepância pode ser explicada pelos métodos diagnósticos utilizados nos trabalhos. No presente estudo, as amostras foram submetidas à PCR, teste com alta sensibilidade, detectando o parasito. Já as análises sorológicas com resultados positivos dos demais trabalhos indicam que, em algum momento, os animais tiveram contato com o agente e desenvolveram resposta imune.

Gráfico 2 – Reação em Cadeia de Polimerase em busca do diagnóstico de *Neospora caninum* dos ovinos (n = 270) provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020



Fonte: elaborado pelo autor.

Analisando isoladamente as propriedades, as quatro propriedades apresentaram animais positivos para *Neospora caninum*. Os resultados por propriedade podem ser observados na Tabela 12.

Todas as propriedades estudadas apresentaram resultado positivo, variando de 11,45% a 64,58% (Tabela 12). Duas propriedades (Propriedade 02 e Propriedade 04) relataram, por

meio do questionário zoonosológico, enfrentar distúrbios reprodutivos. Contudo, não foi observada diferença estatística significativa na variável distúrbios reprodutivos ($p=0,117$). Ademais, todas as quatro propriedades apresentavam cães, os quais tinham contato com os ovinos. Entretanto, não foi possível realizar análise estatística para a variável presença de cães, já que todas as propriedades apresentavam cães, inviabilizando a análise.

Conforme descrito por Machado et al. (2011), é fundamental conhecer os fatores de risco e associá-los aos resultados encontrados. Em seu estudo, as variáveis estatisticamente relacionadas à soropositividade para *N. caninum* em ovinos foram: represas como abastecimento de água, presença de outros canídeos domésticos e presença de problemas reprodutivos.

Tabela 12 – Distribuição de *Neospora caninum* em ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

PCR	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01</i> (N = 71)	
Positivo	10 (14,08%)
Negativo	61 (85,92%)
<i>Propriedade 02</i> (N = 48)	
Positivo	31 (64,58%)
Negativo	17 (35,42%)
<i>Propriedade 03</i> (N = 55)	
Positivo	17 (30,90%)
Negativo	38 (69,10%)
<i>Propriedade 04</i> (N = 96)	
Positivo	11 (11,45%)
Negativo	85 (88,55%)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

No que se refere à fonte de água, variável considerada fator de risco para neosporose, a Propriedade 01 relatou ser poço, a Propriedade 02 ser cisterna e as Propriedades 03 e 04 ser nascente. Houve diferença estatística para a variável fonte de água ($p=0,000$), sendo que as origens poço ($p=0,006$), nascente ($p=0,001$) e cisterna ($p=0,000$) influenciaram nos resultados aqui apresentados, provavelmente devido à maior exposição dos animais às fezes dos cães por meio da água, hospedeiros definitivos na neosporose (GREENE, 2006), corroborando com estudo presente na literatura (MACHADO et al., 2011).

A Tabela 13 resume as variáveis sexo e idade em relação à frequência de amostras positivas para *N. caninum* na PCR. Em relação ao sexo, 46,15% (06/13) dos machos foram positivos e 24,51% (63/257) das fêmeas foram positivas. Não foi observada diferença estatística significativa entre machos e fêmeas ($p=0,102$). Dentre os animais jovens (6 - 12 meses), 3,84% (01/26) foram positivos. Já dentre os animais com idade entre 13 – 24 meses, 12,82% (05/39) foram positivos. Por fim, os animais adultos com idade superior a 24 meses apresentaram soropositividade de 29,49% (41/139). Houve diferença estatística apenas entre as proporções de animais positivos da categoria >24 meses ($p=0,002$). A associação positiva entre animais adultos e a positividade para *N. caninum* se deve, provavelmente, ao aumento das oportunidades de exposição ao agente infeccioso ao longo dos anos.

Tabela 13 – Frequência de amostras positivas de *N. caninum* na PCR em amostras de ovinos de acordo com variáveis individuais (sexo e idade) provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Variável	Número de ovinos	Frequência de amostras positivas
<i>Sexo</i> (N = 270)		
Machos	13	06 (46,15%)
Fêmeas	257	63 (24,51%)
<i>Idade</i> (N = 204)*		
6 - 12 meses	26	01 (03,84%)
13 - 24 meses	39	05 (12,82%)
> 24 meses	139	41 (29,49%)

Fonte: elaborado pelo autor.

N: Número de ovinos avaliados para cada variável. *Não foi possível obter a idade de 66 ovinos.

Diante do exposto e dos resultados apresentados, pode-se considerar que a neosporose está amplamente distribuída entre os rebanhos. Quando ocorrem abortos nas propriedades, geralmente o agente responsabilizado é o *T. gondii*, muitas vezes sem o diagnóstico laboratorial. Assim, a importância da neosporose em ovinos pode estar oculta. Neste sentido, Pereira et al. (2021) realizaram um estudo com o objetivo de relatar a detecção de DNA de *N. caninum* em um cordeiro recém-nascido com sinais neurológicos e neosporose congênita em um cordeiro natimorto, ambos nascidos da mesma ovelha em um rebanho no sul do Brasil, soropositiva para *N. caninum* e soronegativa para *T. gondii*. A infecção por *N. caninum* foi confirmada no cordeiro recém-nascido por PCR e no cordeiro natimorto por histopatologia, imunohistoquímica e testes de PCR. Neste contexto, é importante destacar que encontrar o DNA do agente não significa, necessariamente, que *N. caninum* foi a causa do aborto, tornando-se importante associar lesões histopatológicas no feto e descartar outras causas comuns de aborto, além de considerar eventos multifatoriais.

5.6 Sequenciamento nucleotídico

Das amostras que até então foram enviadas para sequenciamento nucleotídico, apenas uma foi sequenciada com sucesso. A amostra da Propriedade 02 foi confirmada como *N. caninum*, comprovando o resultado apresentado pela PCR. Novas tentativas serão realizadas para detectar quais são as espécies dos demais agentes que estão circulando nos rebanhos.

5.7 Análises sorológicas para *T. gondii*

Por meio da realização do ELISA-IgG indireto, das 267 amostras analisadas, 59 (22,1%; IC95% 17,83 – 27,04) apresentaram o índice de reatividade (I.R.) $\geq 1,0$, sendo consideradas amostras positivas para anticorpos IgG anti-*T. gondii* (Tabela 14). As amostras consideradas negativas foram 208 (77,9%; IC95% 72,95 – 82,16) pois apresentaram I.R. $< 1,0$. Os resultados individuais de I.R. para cada uma das amostras são mostrados no Apêndice 1.

Alguns trabalhos realizados no Brasil em ovinos encontraram resultados semelhantes. No Rio Grande do Norte, a prevalência estimada de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi de 22,1% (205/930) (ANDRADE et al., 2013). No Espírito Santo a prevalência foi de 38,5% (91/236) (TESOLINI et al., 2012) e no Rio de Janeiro de 38,05% (137/360) (LUCIANO et al., 2011). Estudos realizados em Minas Gerais, por sua vez, apresentam resultados diversos entre si. Em Uberlândia, a prevalência estimada foi de 75% (116/155) (ROSSI et al., 2011). Já em Uberaba a prevalência encontrada foi de 57,6% (144/250) (BASSI et al., 2013). Dorneles et al. (2020) conduziram um grande estudo com amostras de 21 rebanhos de todo o estado de Minas Gerais. Seus resultados mostraram que 10,46% (62/594) das amostras apresentaram resultado positivo e que em 71,43% (15/21) dos rebanhos houve a detecção de anticorpos.

Tabela 14 – Frequência de positividade para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* detectados por ELISA em soros de ovinos do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Resultado do ELISA	Frequência de amostras positivas	I.C. 95%
Positivo (I.R. $\geq 1,0$)	22,1% (59/267)	17,83% – 27,04%
Negativo (I.R. $< 1,0$)	77,9% (208/267)	72,95% – 82,16%

Fonte: elaborado pelo autor.

Analisando individualmente os rebanhos, 100% (4/4) apresentaram resultado positivo para anticorpos IgG anti-*T. gondii*, como descrito na Tabela 15. Contudo, os resultados apresentaram elevada discrepância, obtendo destaque a propriedade 01, com 50,0% das

amostras positivas. Neste contexto, os fatores de risco devem ser analisados, uma vez que cada propriedade apresenta suas próprias características ambientais e de manejo. Extraindo informações do questionário zoonosológico das quatro propriedades participantes do estudo, apenas a Propriedade 01 relatou presença de gatos, os quais tinham acesso a água e aos alimentos dos ovinos. Houve diferença estatística entre as proporções de animais positivos e a presença de gatos ($p=0,000$). Andrade et al. (2013) e Rêgo et al. (2016), em seus trabalhos realizados no Rio Grande do Norte e no Piauí, respectivamente, concluíram que um importante fator de risco para toxoplasmose em ovinos é a presença de gatos na propriedade. Diante do exposto, os resultados apresentados corroboram com os achados desses, uma vez que a única propriedade que tinha gatos foi a que apresentou maior positividade para anticorpos IgG anti-*T. gondii*, reforçando a importância do hospedeiro definitivo. Outro ponto que deve ser destacado é que gatos errantes também podem ter acesso à propriedade ou a reservatórios de água, além dos felídeos silvestres, o que pode influenciar na prevalência da toxoplasmose. Ademais, o *T. gondii* pode se manter no rebanho por meio da transmissão vertical. Klauck et al. (2016) conduziram um estudo no Brasil que detectou que a transmissão transplacentária é muito alta em ovelhas infectadas cronicamente, o que permite que a doença se mantenha no rebanho por muitos anos.

Tabela 15 – Frequência de positividade para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* detectados por ELISA em soros de ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Identificação	Frequência de amostras positivas	I.C. 95%
Propriedade 01	50,0% (34/68)	38,19% – 61,80%
Propriedade 02	18,75% (09/48)	09,95% – 32,50%
Propriedade 03	14,5% (08/55)	07,37% – 26,68%
Propriedade 04	8,3% (08/96)	04,19% – 15,88%
Total	22,1% (59/267)	17,83% – 27,04%

Fonte: elaborado pelo autor.

A Tabela 16 resume as variáveis sexo e idade em relação à frequência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* nos ovinos avaliados. Em relação ao sexo, 30,8% (04/13) dos machos foram positivos e 21,6% (55/254) das fêmeas foram positivas. Não foi observada diferença estatística significativa entre machos e fêmeas ($p=0,930$). Dentre os animais jovens (6-12 meses), 8,33% (02/24) foram positivos. Já dentre os animais com idade entre 1 –24 meses, 15,38% (06/39) foram positivos. Por fim, os animais adultos com idade superior a 24 meses apresentaram

soropositividade de 23,18% (32/138). Apesar dos animais com idade superior a 24 meses terem apresentado uma positividade aparentemente maior que as demais categorias, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,140$). Alguns autores já relataram as variáveis analisadas como fatores de risco para a toxoplasmose em ovelhas. Muitos trabalhos presentes na literatura trazem a idade como um importante fator de risco, com os animais adultos exibindo maior chance de infecção para *T. gondii* (ANDRADE et al., 2013; EL SAFADI et al., 2019; YAN et al., 2020). A associação positiva entre idade e soroprevalência se deve, provavelmente, ao aumento das oportunidades de exposição ao agente infeccioso (HALOS et al., 2010). No que tange ao sexo dos ovinos, não houve relação entre essa variável e a soropositividade para toxoplasmose, confirmando estudos anteriores (CABALLERO-ORTEGA et al., 2008; CARNEIRO et al., 2009).

Tabela 16 – Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* detectados por ELISA em soros de ovinos de acordo com variáveis individuais (sexo e idade) provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Variável	Número de ovinos	Frequência de amostras positivas
<i>Sexo</i> (N = 267)		
Machos	13	04 (30,8%)
Fêmeas	254	55 (21,6%)
<i>Idade</i> (N = 201)*		
6 - 12 meses	24	02 (08,33%)
13 - 24 meses	39	06 (15,38%)
> 24 meses	138	32 (23,18%)

Fonte: elaborado pelo autor.

N: Número de ovinos avaliados para cada variável. *Não foi possível obter a idade de 66 ovinos. **

No que se refere à fonte de água, outra variável considerada fator de risco para toxoplasmose, a Propriedade 01 relatou ser poço, a Propriedade 02 ser cisterna e as Propriedades 03 e 04 ser nascente. Houve diferença estatística para a variável fonte de água poço ($p=0,000$) e nascente ($p=0,000$), sendo a variável cisterna não considerada estatisticamente significativa ($p=0,529$). Neste sentido, é essencial destacar que poços e nascentes estão expostos ao ambiente, o que pode facilitar a contaminação por oocistos, os quais, estando esporulados, podem causar a infecção se ingeridos pelos ovinos por meio da água ou alimentos contaminados (DUBEY; BEATTIE, 2010). Estudos anteriores comprovaram a fonte de água como fator de risco, como no trabalho conduzido por Andrade et al. (2013), no Rio Grande do Norte, Brasil. Em sua pesquisa, a variável estatisticamente significativa encontrada foi o uso de água corrente. Ainda, duas propriedades (Propriedade 02 e Propriedade 04) relataram, por meio do questionário zoonosológico, enfrentar distúrbios

reprodutivos. Foi observada diferença estatística significativa na variável distúrbios reprodutivos ($p=0,000$) para toxoplasmose. Quando a infecção por *T. gondii* é adquirida durante a gestação, pode resultar em abortos e más-formações, cuja gravidade depende do estágio gestacional.

Nas 59 amostras de soros positivos foi realizada a avaliação da avidéz de anticorpos IgG. Por meio dessa análise é possível distinguir infecções agudas e crônicas. As infecções crônicas são caracterizadas por anticorpos de alta avidéz (índice de avidéz > 50%) (HEDMAN et al., 1989; SUARÉZ-ARANDA et al., 2000). Em contrapartida, as infecções recentes (agudas) são caracterizadas por uma alta porcentagem de anticorpos de baixa avidéz, isto é, baixa afinidade para os antígenos correspondentes (índice de avidéz < 50%). Os resultados apresentados na Tabela 17 e Apêndice 1 mostram que 57 das 59 amostras positivas apresentaram avidéz de IgG maior que 50% e apenas duas (3,4%) das 59 apresentaram avidéz menor que 50%, demonstrando que 96,4% dos ovinos encontram-se em fase crônica da toxoplasmose. As duas amostras que apresentaram avidéz menor que 50% são referentes a fêmeas, sendo uma com seis meses de vida e a outra não houve a idade informada.

Tabela 17 – Avidéz de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em ovinos provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Índice de avidéz	Frequência de amostras
Maior que 50%	96,6% (57/59)
Menor que 50%	3,4% (02/59)

Fonte: elaborado pelo autor.

Avaliar o tempo da infecção por *T. gondii* é de extrema relevância, uma vez que em infecções agudas ocorrem as principais manifestações clínicas da toxoplasmose, bem como a possibilidade de transmissão congênita da infecção em humanos (CAMARGO et al., 1977) e surtos abortivos em rebanhos ovinos (BENAVIDES et al., 2017). Em seres humanos a determinação da avidéz de IgG anti-*T. gondii* já é usada como ferramenta auxiliar para diagnóstico da toxoplasmose aguda gestacional, associada à pesquisa de anticorpos IgG, IgM e IgA (CANDOLFI et al., 2007).

Titulações altas de anticorpos IgG anti-*T.gondii* é uma outra estratégia descrita na literatura e que pode ser usada na tentativa de distinguir infecções agudas e crônicas da toxoplasmose ovina. Figliuolo et al. (2004) relataram que 36,2% dos ovinos, estudados em São Paulo pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), estão provavelmente na fase aguda da toxoplasmose por apresentarem títulos de IgG anti-*T.gondii* superiores a 1:1024. A mesma

estratégia foi utilizada por Klun et al. (2006) ao sugerirem que 10% dos ovinos avaliados na Sérvia estão na fase aguda, pois apresentavam títulos iguais ou superiores a 1:1600. Futura testagem por RIFI dos soros de baixa avidéz identificados no presente trabalho poderá corroborar com os resultados já descritos na literatura.

Diante da importância zoonótica, deve-se ponderar que uma gama de mamíferos é considerada hospedeiros suscetíveis e podem ser infectados com *T. gondii* por transmissão transplacentária de taquizoítos, ingestão de tecidos de animais contendo cistos infecciosos com bradizoítos e por ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados. Assim, medidas de controle devem ser adotadas nas propriedades, como destinar corretamente os restos placentários e fetos, a fim de evitar a ingestão por carnívoros, incluindo felídeos domésticos e silvestres.

5.8 Coinfecções

A coinfecção pelos agentes pesquisados neste estudo – hemopatógenos, *T. gondii* e *N. caninum* – ocorreu em 97 (35,92%) dos 270 ovinos avaliados. A Propriedade 01 apresentou 27 (38,02%) coinfecções (Tabela 18), a Propriedade 02 apresentou 34 (70,83%) coinfecções (Tabela 19), a Propriedade 03, por sua vez, apresentou 23 (41,81%) coinfecções (Tabela 20) e, por fim, a Propriedade 04 apresentou 13 (13,54%) coinfecções (Tabela 21). Pode-se concluir que os agentes estudados estão amplamente distribuídos entre os rebanhos ovinos de MG analisados neste trabalho, sendo este o primeiro grande levantamento do diagnóstico de tais infecções e suas associações em ovinos de MG.

Tabela 18 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 01 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Animal	<i>T. gondii</i>	<i>Babesia Theileria</i>	<i>Anaplasma spp</i>	<i>A. marginale</i>	EM	EG	<i>M. ovis</i>	<i>N. caninum</i>
124	+						+	
126	+						+	+
127	+						+	
129	+						+	
130	+						+	+
132	+						+	
133	+						+	+
135	+						+	
137	+						+	+
138							+	+
143	+						+	+
146	+						+	+
150	+						+	
157							+	+
159	+		+	+				
161	+						+	
163	+						+	
168	+						+	+
170	+						+	
171	+						+	
172	+						+	
176	+						+	
178			+	+				
180	+						+	
181	+						+	
189			+	+			+	
191	+						+	

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 19 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 02 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Animal	<i>T. gondii</i>	<i>Babesia Theileria</i>	<i>Anaplasma spp</i>	<i>A. marginale</i>	EM	EG	<i>M. ovis</i>	<i>N. caninum</i>
1224							+	+
419					+			+
1480							+	+
1998			+				+	+
10054	+				+			
14599	+						+	+
4634			+	+		+	+	
1452			+	+			+	+
2549	+						+	+
3288							+	+
3489							+	+
4913	+						+	+
3918							+	+
10543	+						+	
7932							+	+
12990							+	+
11198			+	+			+	
2989					+		+	
3222							+	+
1111							+	+
10228			+				+	
504	+						+	
1096	+						+	+
5649							+	+
3936	+						+	+
20975							+	+
1397					+		+	
4835					+			+
4117					+			+
14655							+	+
14530		+	+				+	
1704							+	+
4818							+	+
3768	+						+	

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 20 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 03 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Animal	<i>T. gondii</i>	<i>Babesia Theileria</i>	<i>Anaplasma spp</i>	<i>A. marginale</i>	EM	EG	<i>M. ovis</i>	<i>N. caninum</i>
18							+	+
454							+	+
366	+						+	
149							+	+
53	+						+	
SI / 9							+	+
55	+						+	+
374	+						+	
382	+						+	
545							+	+
144							+	+
1	+						+	
Amoroso							+	+
2	+						+	
31							+	+
399			+	+			+	+
SI / 13							+	+
358							+	+
141							+	+
182							+	+
33			+	+			+	+
92							+	+
364							+	+

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 21 – Coinfecções detectadas nos ovinos provenientes da Propriedade 04 do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Animal	<i>T. gondii</i>	<i>Babesia Theileria</i>	<i>Anaplasma spp</i>	<i>A. marginale</i>	EM	EG	<i>M. ovis</i>	<i>N. caninum</i>
3	+	+					+	
21	+				+		+	
23							+	+
38							+	+
42							+	+
47							+	+
60							+	+
65							+	+
74							+	+
96					+		+	
97							+	+
104	+						+	+
106	+						+	

Fonte: elaborado pelo autor.

5.9 Análise parasitológica de fezes

Por meio do OPG – Contagem de ovos por grama de fezes – foi mensurado o grau de parasitismo por tricostrongilídeos dos animais pertencentes ao presente estudo. Segundo Ueno e Gonçalves (1998), as infecções por nematódeos gastrintestinais podem ser classificadas como grau leve (500 – 800 ovos), grau moderado (800 – 1.500 ovos) e grau elevado (>1.500 ovos). Importante ponderar que o OPG realiza o diagnóstico identificando ovos da família Trichostrongylidae, que inclui os gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus*, os quais são importantes causas de anemia em ovinos devido à hematofagia. Para diagnosticar o gênero é necessário a realização do Método de Baermann e análise das larvas L3, o qual não foi realizado por limitação de tempo.

Foram colhidas fezes de 197 animais. Contagem negativa de ovos de tricostrongilídeos ocorreu em 42,13% (83/197) das amostras analisadas e contagem com valores inferiores a 500 ovos ocorreu em 20,81% (41/197) das amostras analisadas. Infecção grau leve foi detectada em 6,59% (13/197) das amostras, grau moderado em 4,56% (09/197) e grau elevado em 26,90% (53/197), como é demonstrado na Tabela 22. Não foi possível obter fezes de 73 animais. Importante destacar que não há dados sobre a data da última vermifugação dos animais.

Tabela 22 – Contagem de ovos de tricostrongilídeos em fezes de ovinos provenientes do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Contagem de ovos de tricostrongilídeos	Amostras analisadas
0	42,13% (83/197)
< 500	20,81% (41/197)
500 – 800	06,59% (13/197)
800 – 1.500	04,56% (09/197)
> 1.500	26,90% (53/197)

Fonte: elaborado pelo autor.

Os tricostrongilídeos são responsáveis por grandes perdas econômicas em animais de produção, principalmente em ovinos, sendo os gêneros com maior enfoque o *Haemonchus*, que parasita o abomaso, e o *Trichostrongylus*, que parasita o abomaso e o intestino de ruminantes (FOREYT, 2005; URQUHART et al., 1998). Levantamentos realizados anteriormente revelam que mais de 80% da carga parasitária de caprinos e ovinos é composta por *H. contortus* (AROSEMENA et al., 1999; COSTA; VIEIRA, 1984; GIRÃO et al., 1992). Por ser hematófago, o *H. contortus* é responsável por um quadro clínico severo de anemia, sendo

considerado o endoparasita que causa os maiores prejuízos para a cadeia produtiva de caprinos e ovinos (URQUHART et al., 1998). Neste sentido, fazendo uma correlação entre os resultados de OPG com o VG<27% (indicando animais anêmicos), encontrou-se uma correlação significativa ($p=0,003$), porém fraca (*Spearman's rho* = -0,24), demonstrando que os resultados encontrados no OPG influenciaram discretamente nos resultados de VG<27%.

No que se refere aos resultados por propriedade, a contagem de ovos de tricostrongilídeos variaram expressivamente, como pode ser observado na Tabela 23.

Tabela 23 – Contagem de ovos de tricostrongilídeos em fezes de ovinos provenientes de quatro diferentes propriedades do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Contagem de ovos de tricostrongilídeos	Amostras analisadas
<i>Propriedade 01 (N = 51)</i>	
0	49,01% (25/51)
< 500	35,29% (18/51)
500 – 800	03,92% (02/51)
800 – 1.500	03,92% (02/51)
> 1.500	07,84% (04/51)
<i>Propriedade 02 (N = 42)</i>	
0	88,09% (37/42)
< 500	07,14% (03/42)
500 – 800	02,38% (01/42)
800 – 1.500	02,38% (01/42)
> 1.500	00,00% (00/42)
<i>Propriedade 03 (N = 36)</i>	
0	36,11% (13/36)
< 500	11,11% (04/36)
500 – 800	11,11% (04/36)
800 – 1.500	08,33% (03/36)
> 1.500	36,11% (13/36)
<i>Propriedade 04 (N = 68)</i>	
0	11,76% (08/68)
< 500	23,52% (16/68)
500 – 800	08,82% (06/68)
800 – 1.500	04,41% (03/68)
> 1.500	52,94% (36/68)

Fonte: elaborado pelo autor.
N: Número de ovinos avaliados.

Em todas as propriedades houveram amostras de fezes com contagens negativas, bem como com infecções grau leve e moderado. Apenas a Propriedade 02 não apresentou resultado

com infecção grau elevado. Neste momento, o tangenciamento das informações aqui apresentadas com os resultados de VG, principalmente da Propriedade 02, faz-se necessário. Na Propriedade 02, 77,08% (37/48) das amostras apresentaram VG<27%, ou seja, grande parte dos animais apresentavam-se anêmicos no momento da coleta. Analisado o resultado do OPG da mesma propriedade, apenas 2,08% (01/48) das amostras demonstraram infecção grau moderado e nenhuma amostra demonstrou infecção grau elevado. Neste sentido, a principal causa de anemia em ovinos, a hemoncose, não explica o VG expressivamente reduzido dos animais da Propriedade 02. Assim, outras origens podem ser consideradas, como as hemoparasitoses. Por meio da PCR, 72,91% (35/48) das amostras da Propriedade 02 foram positivas para *Mycoplasma*, 12,5% (06/48) positivas para *Anaplasma* e *Ehrlichia/Anaplasma* monocítica e 2,08% (01/48) positivas para *Ehrlichia/Anaplasma* de granulócitos e plaquetas e *Babesia*. Por meio dos dados apresentados, sugere-se que as hemoparasitoses devem ser consideradas diagnóstico diferencial para ovinos anêmicos.

6 CONCLUSÕES

- As hemoparasitoses estão presentes em todos os rebanhos analisados;
- A PCR é indispensável para o diagnóstico de hemopatógenos, uma vez que demais técnicas, como a leitura de esfregaço sanguíneo, apresentam baixa sensibilidade;
- O reuso de agulhas influenciou estatisticamente na positividade de *M. ovis*, prática que deve ser evitada a fim de reduzir a frequência de micoplasmose e de outras enfermidades;
- A presença de ectoparasitos influenciou estatisticamente na positividade de *Anaplasma* spp. e *Ehrlichia* monocítica, embora não seja fácil a detecção desses ectoparasitos em animais lanados;
- Propriedades com as fontes de água poço, nascente e cisterna resultaram em maior frequência de ovinos positivos para *N. caninum*;
- Ovinos pertencentes a categoria >24 meses de vida foram estatisticamente mais prevalentes a infecção por *N. caninum*.
- A infecção por *T. gondii* está presente em todos os rebanhos analisados;
- A presença de gatos resultou em maior frequência de ovinos soropositivos para toxoplasmose, reforçando a importância do hospedeiro definitivo;
- Fontes de água poço e nascente resultam em maior frequência de ovinos soropositivos para toxoplasmose;
- Ovinos soropositivos para toxoplasmose estão presentes em propriedades com distúrbios reprodutivos;
- Não há evidências de surto recente de toxoplasmose aguda nos rebanhos;
- Todas as propriedades apresentaram coinfeções entre os agentes estudados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, D. A.; ALI, M. S.; OMER, S. G.; OLA-FADUNSIN, S. D.; ALI, F. F.; GIMBA, F. I. Prevalence and climatic influence on hemoparasites of cattle and sheep in Mosul, Iraq. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 492–498, 2019. DOI: 10.5455/javar.2019.f373.
- ABRÃO, D. C.; CARVALHO, A. U.; FILHO, E. J. F.; SATURNINO, H. M.; RIBEIRO, M. F. B. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira**, [S. l.], v. 1, n. 0, p. 672–676, 2009. DOI: 10.5216/cab.v1i0.7882.
- ADEMOLA, I. O.; ONYICHE, T. E. Haemoparasites and haematological parameters of slaughtered ruminants and pigs at Bodija abattoir, Ibadan, Nigeria. **African Journal of Biomedical Research**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 101–105, 2013.
- AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; RODRIGUES, A. A. R.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, amazônia ocidental Brasileira. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S. l.], v. 71, n. January, p. 616–618, 2004.
- AGUIRRE, D. H.; THOMPSON, C.; NEUMANN, R. D.; SALATIN, A. O.; GAIDO, A. B.; TORIONI DE ECHAIDE, S. Brote de micoplasmosis clínica por *Mycoplasma ovis* en ovinos de Salta, Argentina. Diagnóstico clínico, microbiológico y molecular. **Revista Argentina de Microbiología**, [S. l.], v. 41, n. 4, p. 212–214, 2009.
- AIT LBACHA, H. et al. High Prevalence of *Anaplasma* spp. in Small Ruminants in Morocco. **Transboundary and Emerging Diseases**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 250–263, 2017. DOI: 10.1111/tbed.12366.
- AKTAŞ, M.; ALTAY, K.; DUMANLI, N. Survey of *Theileria* parasites of sheep in eastern Turkey using polymerase chain reaction. **Small Ruminant Research**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 289–293, 2005. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2005.01.002.
- AKTAS, Munir; OZUBEK, Sezayi. A molecular survey of small ruminant hemotropic mycoplasmosis in Turkey, including first laboratory confirmed clinical cases caused by *Mycoplasma ovis*. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 208, n. August, p. 217–222, 2017. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.08.011.
- AL-AMERY, M. A. Y.; HASSO, S. A. Laboratory diagnosis of novel species of *Theileria hirci*, *Eimeria caprovina* and *Eimeria pallida* in goats in Iraq. **Small Ruminant Research**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. 163–166, 2002. DOI: 10.1016/S0921-4488(02)00023-8.
- ALHASSAN, A.; PUMIDONMING, W.; OKAMURA, M.; HIRATA, H.; BATTSETSEG, B.; FUJISAKI, K.; YOKOYAMA, N.; IGARASHI, I. Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 129, n. 1–2, p. 43–49, 2005. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.12.018.

ALMEIDA, M. A. O. Epidemiologia da *Neospora caninum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 13, p. 37–40, 2004.

ALMERIA, S.; CASTELLÀ, J.; FERRER, D.; ORTUO, A.; ESTRADA-PEA, A.; GUTIÉRREZ, J. F. Bovine piroplasms in Minorca (Balearic Islands, Spain): A comparison of PCR-based and light microscopy detection. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 99, n. 3, p. 249–259, 2001. DOI: 10.1016/S0304-4017(01)00464-2.

ALMERIA, S.; DUBEY, J. P. Foodborne transmission of *Toxoplasma gondii* infection in the last decade. An overview. **Research in Veterinary Science**, [S. l.], n. June, 2020. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.10.019.

ALTAY, K.; DUMANLI, N.; HOLMAN, P. J.; AKTAS, M. Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 127, n. 2, p. 99–104, 2005. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.09.012.

ANASTASIA, D.; ELIAS, P.; NIKOLAOS, P.; CHARILAOS, K.; NEKTARIOS, G. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 198, n. 3–4, p. 387–390, 2013. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.09.017.

ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, [S. l.], p. 417–431, 2000. DOI: 10.1016/j.cvfa.2005.03.004.

ANDRADE, G. S.; BRUHN, F. R. P.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. S.; GOUVEIA, A. M. G.; GUIMARÃES, A. M. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in sheep in the state Minas Gerais, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 188, n. 1–2, p. 168–171, 2012. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.03.006.

ANDRADE, M. M. C.; CARNEIRO, M.; MEDEIROS, A. D.; NETO, V. A.; VITOR, R. W. A. Seroprevalence and risk factors associated with ovine toxoplasmosis in Northeast Brazil. **Parasite**, [S. l.], v. 20, n. 1, 2013. DOI: 10.1051/parasite/2013019.

ANDREOTTI, R.; MATOS, M. F. C.; GONÇALVES, K. N.; OSHIRO, L. M.; LIMA-JUNIOR, M. S. C.; PAIVA, F.; LEITE, F. L. Comparison of indirect ELISA based on recombinant protein NcSRS2 and IFAT for detection of *Neospora caninum* antibodies in sheep. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 19–22, 2009. DOI: 10.4322/rbpv.01802004.

AROSEMENA, N. A. E.; BEVILAQUA, C. M. L.; MELO, A. C. F. L.; GIRÃO, M. D. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi- arid area in Brazil. **Rev. Med. Vet.**, [S. l.], v. 150, p. 873–876, 1999.

BARBOSA, I. C. et al. *Anaplasma marginale* in goats from a multispecies grazing system in northeastern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, [S. l.], v. 12, n. 1, 2021. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101592.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. **Instituto Butantan**, [S. l.], 2006.

- BASSI, P. B.; BITTAR, J. F. F.; DA SILVA, C. C.; DOS SANTOS, J. P.; BITTAR, E. R. Prevalência de parasitos gastrintestinais e de toxoplasmose em ovinos da região de Uberaba, MG. **Bioscience Journal**, [S. l.], v. 29, n. 2, p. 434–438, 2013.
- BASTOS, C. V.; PASSOS, L. M. F.; VASCONCELOS, M. M. C.; RIBEIRO, M. F. B. In vitro establishment and propagation of a Brazilian strain of *Anaplasma marginale* with appendage in IDE8 (*Ixodes scapularis*) cells. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 399–403, 2009. DOI: 10.1590/s1517-83822009000200034.
- BATISTA, J. S. et al. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 165, n. 1–2, p. 131–135, 2009. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.07.005.
- BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA, R. C.; GUERRA, J. L. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 31–37, 2006. DOI: 10.1590/s0100-736x2006000100007.
- BATISTA, J. S.; RODRIGUES, C. M. F.; GARCÍA, H. A.; BEZERRA, F. S. B.; OLINDA, R. G.; TEIXEIRA, M. M. G.; SOTO-BLANCO, B. Association of *Trypanosoma vivax* in extracellular sites with central nervous system lesions and changes in cerebrospinal fluid in experimentally infected goats. **Veterinary Research**, [S. l.], v. 42:63, p. 1–7, 2011. DOI: 10.1186/1297-9716-42-63.
- BENAVIDES, J.; FERNÁNDEZ, M.; CASTAÑO, P.; FERRERAS, M. C.; ORTEGA-MORA, L.; PÉREZ, V. Ovine Toxoplasmosis: A New Look at its Pathogenesis. **Journal of Comparative Pathology**, [S. l.], v. 157, n. 1, p. 34–38, 2017. DOI: 10.1016/j.jcpa.2017.04.003.
- BERKENKAMP, S. D.; WESCOTT, R. B. Arthropod transmission of *Eperythrozoon coccoides* in mice. **Laboratory Animal Science**, [S. l.], p. 398–401, 1988.
- BEZERRA, A. C. D. S.; AHID, S. M. M.; VIEIRA, L. S. Ocorrência de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) em caprinos no Rio Grande do Norte, Brasil. **Arq. Inst. Biol**, [S. l.], v. 76, n. 3, p. 459–460, 2009.
- BEZERRA, A. D. S.; SOARES, H. S.; VIEIRA, L. S.; AHID, S. M. M. Ectoparasitos Em Caprinos E Ovinos No Município De Mossoró, Rio Grande Do Norte. **Ciência Animal Brasileira**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 110–116, 2010. DOI: 10.5216/cab.v11i1.3800.
- BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, [S. l.], v. 70, p. 271–274, 1984.
- BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 21–25, 1997. DOI: 10.1590/s0037-86821997000100005.
- BONNET, J.; BOUDOT, C.; COURTIUOX, B. Overview of the Diagnostic Methods Used in the Field for Human African Trypanosomiasis: What Could Change in the Next Years?

BioMed Research International, [S. l.], v. 2015, 2015. DOI: 10.1155/2015/583262.

BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S. l.], n. 4, p. 389–396, 1962.

BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: Variações na gestação e na lactação. **Ciencia Rural**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 942–948, 2006. DOI: 10.1590/S0103-84782006000300033.

BYARUHANGA, C.; COLLINS, N. E.; KNOBEL, D. L.; KHUMALO, Z. T. H.; CHAISI, M. E.; OOSTHUIZEN, M. C. Molecular detection and phylogenetic analysis of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma centrale* amongst transhumant cattle in north-eastern Uganda. **Ticks and Tick-borne Diseases**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 580–588, 2018. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.01.012.

CABALLERO-ORTEGA, H.; PALMA, J. M.; GARCÍA-MÁRQUEZ, L. J.; GILDO-CÁRDENAS, A.; CORREA, D. Frequency and risk factors for toxoplasmosis in ovines of various regions of the State of Colima, Mexico. **Parasitology**, [S. l.], v. 135, n. 12, p. 1385–1389, 2008. DOI: 10.1017/S0031182008004873.

CABEZAS-CRUZ, A.; ZWEYGARTH, E.; VANCOVÁ, M.; BRONISZEWSKA, M.; GRUBHOFFER, L.; PASSOS, L. M. F.; RIBEIRO, M. F. B.; ALBERDI, P.; DE LA FUENTE, J. *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 66, n. 3, p. 1426–1430, 2016. DOI: 10.1099/ijsem.0.000895.

CADIOLI, F. A. B.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIOR, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 118–124, 2012.

CADIOLI, F. A.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; SANTOS, G. N.; ANDRÉ, M. R.; CASTILHO, K. J. G. A.; MACHADO, R. Z. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 214, n. 1–2, p. 174–177, 2015. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.09.001.

CAMARGO, M. E.; LESER, P. G.; LESER, W. S. P. Definição de perfis sorológicos na toxoplasmose: importância diagnóstica e epidemiológica. **Rev. bras. Pat. clin**, [S. l.], 1977.

CAMPBELL, R. W.; SLOAN, C. A.; HARBUTT, P. R. Observations on Mortality in Lambs in Victoria Associated With *Eperythrozoon ovis*. **Australian Veterinary Journal**, [S. l.], v. 47, n. 11, p. 538–541, 1971. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1971.tb02048.x.

CANDOLFI, E.; PASTOR, R.; HUBER, R.; FILISETTI, D.; VILLARD, O. IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample in immunocompetent pregnant women. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [S. l.], v. 58, n. 1, p. 83–88, 2007. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2006.12.010.

CARNEIRO, A. C. A. V.; CARNEIRO, M.; GOUVEIA, A. M. G.; VILAS-BOAS, L. S.;

VITOR, R. W. A. Seroprevalence and risk factors of sheep toxoplasmosis in Minas Gerais, Brazil. **Revue de Medecine Veterinaire**, [S. l.], v. 160, n. 11, p. 527–531, 2009.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 769–771, 2008. DOI: 10.1590/S0102-09352008000300037.

CHITANGA, S.; MARCOTTY, T.; NAMANGALA, B.; VAN DEN BOSSCHE, P.; VAN DEN ABBEELE, J.; DELESPAUX, V. High prevalence of drug resistance in animal trypanosomes without a history of drug exposure. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 5, n. 12, 2011. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001454.

ÇIÇEK, H.; DÜZGÜN, A.; EMRE, Z.; KARAER, Z. Seroprevalence of *Babesia ovis* in sheep around Afyon. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 683–686, 2004.

CLEMENTINO, M. M.; SOUZA, M. F.; NETO, V. F. Andrad. Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 146, n. 3–4, p. 199–203, 2007. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.02.036.

COELHO, L. C. T. **Anaplasmoze bovina: parâmetros clínicos e de patologia clínica em bezerros infectados experimentalmente**. 2007. Universidade Federal de Minas Gerais, [S. l.], 2007.

COHN, L. A. Ehrlichiosis and related infections. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 863–884, 2003. DOI: 10.1016/S0195-5616(03)00031-7.

CORPORATION, Promega. **GoTaq(R) Green Master Mix**. 2016. Disponível em: <https://www.promega.com/-/media/files/resources/protocols/product-information-sheets/g/gotaq-green-master-mixprotocol.%0Apdf>. Acesso em: 7 jan. 2021.

COSTA, A. L. **Manejo sanitário e principais doenças de caprinos e ovinos**. Embrapa caprinos e ovinos, , 2002.

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S. Controle de nematódeos gastrintestinais de caprinos e ovinos no estado do Ceará. **Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos**, [S. l.], v. 13, p. 6, 1984.

COSTA, D. G. C. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. **Journal of Parasitology**, [S. l.], v. 98, n. 3, p. 679–680, 2012. DOI: 10.1645/GE-2910.1.

COSTA, T. R. et al. Comparative Immunology , Microbiology and Infectious Diseases Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in naturally infected ewes in the semiarid region of Brazil. [S. l.], v. 74, n. June 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101595.

COZON, G. J. N.; FERRANDIZ, J.; NEBHI, H.; WALLON, M.; PEYRON, F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii*

infection in pregnant women. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 32–36, 1998. DOI: 10.1007/BF01584360.

CRIADO-FORNELIO, A.; MARTINEZ-MARCOS, A.; BULING-SARAÑA, A.; BARBA-CARRETERO, J. C. Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 93, n. 4, p. 307–317, 2003. DOI: 10.1016/S0378-1135(03)00044-0.

DA SILVEIRA, J. A. G.; RABELO, E. M. L.; RIBEIRO, M. F. B. Detection of *Theileria* and *Babesia* in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in the State of Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 177, n. 1–2, p. 61–66, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.10.044.

DADDOW, K. N. *Eperythrozoon ovis* - a cause of anaemia, reduced production and decreased exercise tolerance in sheep. **Australian Veterinary Journal**, [S. l.], v. 55, p. 433–434, 1979. a.

DADDOW, K. N. The Natural Occurrence in a Goat of an Organism Resembling *Eperythrozoon Ovis*. **Australian Veterinary Journal**, [S. l.], v. 55, n. 12, p. 605–606, 1979. b. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1979.tb07072.x.

DADDOW, K. N. The duration of the carrier state of *Eperythrozoon ovis* infection in sheep. **Australian Veterinary Journal**, [S. l.], v. 57, n. 1, p. 49–49, 1981. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1981.tb07090.x.

DAWSON, A. C.; ASHANDER, L. M.; APPUKUTTAN, B.; WOODMAN, R. J.; DUBEY, J. P.; WHILEY, H.; SMITH, J. R. Lamb as a potential source of *Toxoplasma gondii* infection for Australians. **Australian and New Zealand Journal of Public Health**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 49–52, 2020. DOI: 10.1111/1753-6405.12955.

DE LA FUENTE, J.; ESTRADA-PEÑA, A.; CABEZAS-CRUZ, A.; KOCAN, K. M. *Anaplasma phagocytophilum* Uses Common Strategies for Infection of Ticks and Vertebrate Hosts. **Trends in Microbiology**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 173–180, 2016. DOI: 10.1016/j.tim.2015.12.001.

DE LA FUENTE, J.; RUIZ-FONS, F.; NARANJO, V.; TORINA, A.; RODRÍGUEZ, O.; GORTÁZAR, C. Evidence of *Anaplasma* infections in European roe deer (*Capreolus capreolus*) from southern Spain. **Veterinary Science**, [S. l.], v. 84, n. 3, p. 382–386, 2008. DOI: 10.1016/j.rvsc.2007.05.018.

DE LA FUENTE, J.; VAN DEN BUSSCHE, R. A.; KOCAN, K. M. Molecular phylogeny and biogeography of North American isolates of *Anaplasma marginale* (Rickettsiaceae: Ehrlichieae). **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 97, n. 1, p. 65–76, 2001. DOI: 10.1016/S0304-4017(01)00378-8.

DESQUESNES, M.; TRESSE, L. Evaluation de la sensibilité du test de Woo pour la détection de *Trypanosoma vivax*. **Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux**, [S. l.], v. 49, n. 4, p. 315–321, 1996.

DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Existence en Algérie d'une Rickettsia du chien. Bull.

Soc. Path. Exot. 28, 418–419. **Bull. Soc. Path. Exot.**, [S. l.], v. 28, p. 418–419, 1935.

DÓRIA, R. G. S.; PASSARELLI, D.; CHEQUER, T. N.; REGINATO, G. M.; HAYASAKA, Y. B.; NETO, P. F.; GRIGOLETTO, R.; FREITAS, S. H. Investigação clínica e comparação do esfregaço sanguíneo e PCR para diagnóstico de hemoparasitas em equinos de esporte e tração (carroceiros). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 724–730, 2016. DOI: 10.1590/S0100-736X2016000800008.

DORNELES, E. M. S. et al. Seroprevalence of *Brucella ovis*-epididymitis, smooth-brucella, leptospirosis, toxoplasmosis, and maedi-visna in sheep slaughtered in minas gerais State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [S. l.], v. 57, n. 2, 2020. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2020.164278.

DPIRD. **Eperythrozoonosis (*E. ovis*) in Sheep**. 2018.

DUBEY, J. P. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 32, n. 8, p. 929–946, 2002. DOI: 10.1016/S0020-7519(02)00094-2.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean journal of parasitology**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 1–16, 2003. DOI: 10.3347/kjp.2003.41.1.1.

DUBEY, J. P. et al. Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 34, n. 10, p. 1157–1167, 2004. DOI: 10.1016/j.ijpara.2004.07.005.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of Animals and Man**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 230–233, 1990. DOI: 10.1177/104063879000200316.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals-The last five years. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 180, n. 1–2, p. 90–108, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.031.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 323–367, 2007. DOI: 10.1128/CMR.00031-06.

DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: Unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combi. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 51, n. 6, p. 2145–2165, 2001. DOI: 10.1099/00207713-51-6-2145.

EDWARDS, J. F.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* abortion storm in sheep on a Texas farm and isolation of mouse virulent atypical genotype *T. gondii* from an aborted lamb from a

chronically infected ewe. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 192, n. 1–3, p. 129–136, 2013. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.09.037.

EKICI, O. D.; SEVINC, F.; ISIK, N. Instability of ovine babesiosis in an endemic area in Turkey. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 188, n. 3–4, p. 372–375, 2012. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.04.001.

EL SAFADI, D.; CHAHINE, D. A.; AL TARRAF, A.; RAIL, O.; MESTO, K.; ISMAIL, M. B.; HAMZE, M. First report on seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats in North Lebanon. **Journal of infection in developing countries**, [S. l.], v. 13, n. 9, p. 831–836, 2019. DOI: 10.3855/jidc.11425.

EMBRAPA. **Método FAMACHA**©. 2010. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/paratec-controle-integrado-verminoses/vermes/caprinos-ovinos/famacha>. Acesso em: 14 mar. 2021.

EMBRAPA. **Projeto divulga produtos derivados de leite de cabra e ovelha para incentivar consumo**. 2020. Disponível em: https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/55767342/projeto-divulga-produtos-derivados-de-leite-de-cabra-e-ovelha-para-incentivar-consumo?p_auth=crXnEzgC. Acesso em: 25 out. 2020.

EUZÉBY, J. P. List of bacterial names with standing in nomenclature: A folder available on the internet. **International Journal of Systematic Bacteriology**, [S. l.], v. 47, n. 2, p. 590–592, 1997. DOI: 10.1099/00207713-47-2-590.

EZATPOUR, B.; ALIREZAEI, M.; HASSANVAND, A.; ZIBAEI, M.; AZADPOUR, M.; EBRAHIMZADEH, F. The first report of *Neospora caninum* prevalence in aborted and healthy sheep from west of Iran. **Comparative Clinical Pathology**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 19–22, 2013. DOI: 10.1007/s00580-013-1846-x.

FAOSTAT. **Livestock Primary**. 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Acesso em: 25 out. 2020.

FARIA, E. B.; CAVALCANTI, E. F. T. S. F.; MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO-JÚNIOR, J. W.; AZEVEDO, S. S.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in sheep from the state of alagoas, in the northeast region of Brazil. **Journal of Parasitology**, [S. l.], v. 96, n. 1, p. 197–199, 2010. DOI: 10.1645/GE-2176.1.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Wiley, Apr 17, 2000 - Medical -. 5. ed. [s.l.] : Philadelphia, 2000.

FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; GONÇALVES, L. R.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z.; WIJFFELS, G.; CADIOLI, F. A. Comparison of conventional and molecular techniques for *Trypanosoma vivax* diagnosis in experimentally infected cattle. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 28, n. 2, p. 203–209, 2019. DOI: 10.1590/s1984-29612019034.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; DE PAULA, V. S. O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 123, n. 3–4, p. 161–166, 2004. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.06.006.

FOREYT, W. J. **Parasitologia veterinária: manual de referência**. 5. ed. São Paulo: Roca, 2005.

FREYRE, A.; BONINO, J.; FALCON, J.; CASTELLS, D.; CORREA, O.; CASARETTO, A. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 81, n. 1, p. 85–88, 1999. DOI: 10.1016/S0304-4017(98)00215-5.

FRIEDHOFF, K. T. Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. **Parasitologia**, [S. l.], p. 99–109, 1997.

GABARDO, M. P.; OLIVEIRA, J. S. V.; ECCO, R.; GUEDES, R. M. C. Outbreak of ovine abortion by toxoplasmosis in Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 37–41, 2013.

GALIZA, G. J. N.; GARCIA, H. A.; ASSIS, A. C. O.; OLIVEIRA, D. M.; PIMENTEL, L. A.; DANTAS, A. F. M.; SIMÕES, S. V. D.; TEIXEIRA, M. M. G.; RIET-CORREA, F. High mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* in Brazilian hair sheep. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 182, n. 2–4, p. 359–363, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.016.

GARDINER, P. R. Recent Studies of the Biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**, [S. l.], v. 28, n. C, p. 229–317, 1989. DOI: 10.1016/S0065-308X(08)60334-6.

GE, Y.; YIN, H.; RIKIHISA, Y.; PAN, W.; YIN, H. Molecular Detection of Tick-Borne Rickettsiales in Goats and Sheep from Southeastern China. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 309–316, 2016. DOI: 10.1089/vbz.2015.1884.

GHAREKHANI, J.; HEIDARI, H. Serology based comprehensive study of *Neospora* infection in domestic animals in Hamedan province, Iran. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 119–124, 2014. DOI: 10.5455/javar.2014.a23.

GIRÃO, E. S.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, R. N.. **Ocorrência E Distribuição Estacional De Helminthos Gastrintestinais De Caprinos No Município De Teresina, Piauí** *Ciência Rural*, 1992. DOI: 10.1590/s0103-84781992000200013.

GIROTTO-SOARES, A.; SOARES, J. F.; BOGADO, A. L. G.; DE MACEDO, C. A. B.; SANDESKI, L. M.; GARCIA, J. L.; VIDOTTO, O. ‘Candidatus *Mycoplasma haemobos*’: Transplacental transmission in dairy cows (*Bos taurus*). **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 195, p. 22–24, 2016. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.08.020.

GOKÇE, G.; MOR, N.; KIRMIZIGUL, A. H.; BOZUKLUHAN, K.; ERKILIÇ, E. E. The first report of seropositivity for *Neospora caninum* in sheep from Turkey. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, [S. l.], v. 70, n. 2, p. 40–44, 2015.

GRAZZIOTIN, A. L. et al. *Mycoplasma ovis* in captive cervids: Prevalence, molecular characterization and phylogeny. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 152, n. 3–4, p. 415–419,

2011. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.05.001.

GUO, S.; YUAN, Z.; WU, G.; WANG, W.; MA, D.; DU, H. Epidemiology of ovine theileriosis in Ganan region, Gansu Province, China. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 88, p. S36–S37, 2002. DOI: 10.1007/s00436-001-0568-1.

GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D. et al. Maternal immune response in the placenta of sheep during recrudescence of natural congenital infection of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 285, n. August, 2020. DOI: 10.1016/j.vetpar.2020.109204.

HABELA, M.; REINA, D.; NIETO, C.; NAVARRETE, I. Antibody response and duration of latent infection in sheep following experimental infection with *Babesia ovis*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 35, n. 1–2, p. 1–10, 1990. DOI: 10.1016/0304-4017(90)90111-N.

HAENLEIN, G. F. W. Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 84, n. 9, p. 2097–2115, 2001. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74655-3.

HALOS, L. et al. An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 193–200, 2010. DOI: 10.1016/j.ijpara.2009.06.009.

HARTLEY, W. J.; JEBSON, J. L.; MCFARLANE, D. New Zealand type II abortion in ewes. **Aust. Vet. J.**, [S. l.], p. 216–218, 1954.

HASHEMI-FESHARKI, R. Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. **Parasitologia**, [S. l.], v. 39, p. 115–117, 1997.

HE, L.; KHAN, M. Kasib; ZHANG, W. J.; ZHANG, Q. L.; ZHOU, Y. Q.; HU, M.; ZHAO, J.. Detection and identification of *Theileria* infection in sika deer (*Cervus nippon*) in China. **Journal of Parasitology**, [S. l.], v. 98, n. 3, p. 598–603, 2012. DOI: 10.1645/JP-GE-2883.1.

HECKER, Y. P.; MOORE, D. P.; MANAZZA, J. A.; UNZAGA, J. M.; SPÄTH, E. J. A.; PARDINI, L. L.; VENTURINI, M. C.; ROBERI, J. L.; CAMPERO, C. M. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. **Tropical Animal Health and Production**, [S. l.], v. 45, n. 7, p. 1645–1647, 2013. DOI: 10.1007/s11250-013-0396-1.

HEDMAN, K.; LAPPALAINEN, M.; SEPPÄ, I. Recent Primary Toxoplasma Infection Indicated by a Low Avidity of Specific IgG. **The Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 159, n. 4, p. 736–740, 1989.

HILL, D. E.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 107–113, 2013. DOI: 10.1016/j.ijpara.2012.09.012.

HOARE, C. A. **The trypanosomes of mammals. A zoological monograph**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972.

HOELZLE, L. E. Haemotrophic mycoplasmas: Recent advances in *Mycoplasma suis*. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 130, n. 3–4, p. 215–226, 2008. DOI:

10.1016/j.vetmic.2007.12.023.

HOLMES, P. H. Pathophysiology of parasitic infections. **Parasitology**, [S. l.], v. 94, n. S1, p. S29–S51, 1987. DOI: 10.1017/S0031182000085814.

HOOSHMAND-RAD, P.; HAWA, N. J. Malignant theileriosis of sheep and goats. **Trop. Anim. Hith. Prod.**, [S. l.], p. 97–102, 1973.

HORNOK, S.; ELEK, V.; DE LA FUENTE, J.; NARANJO, V.; FARKAS, R.; MAJOROS, G.; FÖLDVÁRI, G. First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 122, n. 3–4, p. 316–322, 2007. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.01.024.

HORNOK, S.; HAJTÓS, I.; MELI, M. L.; FARKAS, I.; GÖNCZI, E.; MEILI, T.; HOFMANN-LEHMANN, R. First molecular identification of *Mycoplasma ovis* and “Candidatus *M. haemoovis*” from goat, with lack of haemoplasma PCR-positivity in lice. **Acta Veterinaria Hungarica**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 355–360, 2012. DOI: 10.1556/AVet.2012.030.

HORNOK, S.; MELI, M. L.; ERDOS, A.; HAJTÓS, I.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Molecular characterization of two different strains of haemotropic mycoplasmas from a sheep flock with fatal haemolytic anaemia and concomitant *Anaplasma ovis* infection. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 136, n. 3–4, p. 372–377, 2009. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.10.031.

HORNOK, S.; SZÉTAG, J.; TÁNCZOS, B.; FARKAS, R. First detection of anaplasmosis in sheep in Hungary, causing death. **Magyar Állatorvosok Lapja**, [S. l.], v. 135, n. 11, p. 655–659, 2013.

HURTADO, A.; ADURIZ, G.; MORENO, B.; BARANDIKA, J.; GARCÍA-PÉREZ, A. L. Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 102, n. 1–2, p. 17–27, 2001. DOI: 10.1016/S0304-4017(01)00526-X.

IBGE. **Censo agropecuário**. 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6930>. Acesso em: 15 maio. 2020.

IRSHAD, N.; QAYYUM, M.; HUSSAIN, M.; KHAN, M. Q. Prevalence of tick infestation and theileriosis in sheep and goats. **Pakistan Veterinary Journal**, [S. l.], v. 30, n. 3, p. 178–180, 2010.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. [s.l.] : Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

JESSE, F. F. A.; JAZID, N. H. A.; MOHAMMED, K.; TIJJANI, A.; CHUNG, E. L. T.; ABBA, Y.; SADIQ, M. A.; SAHAREE, A. A. Hemotropic *Mycoplasma ovis* infection in goats with concurrent gastrointestinal parasitism in Malaysia. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, [S. l.], v. 2, n. 4, p. 464–468, 2015. DOI: 10.5455/javar.2015.b119.

JIANXUN, L.; HONG, Y. Theileriosis of sheep and goats in China. **Tropical animal health**

and production, [S. l.], v. 29, n. 4 Suppl, p. 8–10, 1997. DOI: 10.1007/bf02632907.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo.

JONES, T. W.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma vivax* - Out of Africa. **Trends in Parasitology**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. 99–101, 2001. DOI: 10.1016/S1471-4922(00)01777-3.

JUNIOR, I. M. O. et al. Endogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* in successive generations of congenitally infected goats. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 284, n. 20, 2020. DOI: 10.1016/j.vetpar.2020.109191.

KAAL, J. F.; BAKER, K.; TORGERSON, P. R. Epidemiology of flea infestation of ruminants in Libya. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 141, n. 3–4, p. 313–318, 2006. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.05.034.

KAWAHARA, M.; RIKIHISA, Y.; LIN, Q.; ISOGAI, E.; TAHARA, K.; ITAGAKI, A.; HIRAMITSU, Y.; TAJIMA, T. Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 72, n. 2, p. 1102–1109, 2006. DOI: 10.1128/AEM.72.2.1102-1109.2006.

KAWAHARA, M.; TAJIMA, T.; TORII, H.; YABUTANI, M.; ISHII, J.; HARASAWA, M.; ISOGAI, E.; RIKIHISA, Y. *Ehrlichia chaffeensis* infection of sika deer, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 15, n. 12, p. 1991–1993, 2009. DOI: 10.3201/eid1512.081667.

KENYON, F.; JACKSON, F. Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 186, n. 1–2, p. 10–17, 2012. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.11.041.

KLAUCK, V.; MACHADO, G.; PAZINATO, R.; RADAVELLI, W. M.; SANTOS, D. S.; BERWAGUER, J. C.; BRAUNIG, P.; VOGEL, F. F.; DA SILVA, A. S. Relation between *Neospora caninum* and abortion in dairy cows: Risk factors and pathogenesis of disease. **Microbial Pathogenesis**, [S. l.], v. 92, p. 46–49, 2016. DOI: 10.1016/j.micpath.2015.12.015.

KLUN, I.; DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ, O.; KATIĆ-RADIVOJEVIĆ, S.; NIKOLIĆ, A. Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 135, n. 2, p. 121–131, 2006. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.08.010.

KOCAN, K. M.; DE LA FUENTE, J.; BLOUIN, E. F.; COETZEE, J. F.; EWING, S. A. The natural history of *Anaplasma marginale*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 167, n. 2–4, p. 95–107, 2010. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.09.012.

KOCAN, K. M.; DE LA FUENTE, J.; CABEZAS-CRUZ, A. The genus *Anaplasma*: new challenges after reclassification Introduction and current classification. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, [S. l.], v. 34, n. 2, p. 577–586, 2015.

LABRUNA, M. B. ...; PEREIRA, M. C. Ticks on dogs in Brazil. **Clinica Veterinária**, 2001. LAPPIN, M. R.; GRIFFIN, B.; BRUNT, J.; RILEY, A.; BURNEY, D.; HAWLEY, J.; BREWER, M. M.; JENSEN, W. A. Prevalence of *Bartonella* species, haemoplasma species,

Ehrlichia species, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Neorickettsia risticii* DNA in the blood of cats and their fleas in the United States. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 85–90, 2006. DOI: 10.1016/j.jfms.2005.08.003.

LEE, S. H. et al. Detection and molecular characterization of tick-borne pathogens infecting sheep and goats in Blue Nile and West Kordofan states in Sudan. **Ticks and Tick-borne Diseases**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 598–604, 2018. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.01.014.

LI, H. et al. Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma* species in China: A surveillance study. **The Lancet Infectious Diseases**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 663–670, 2015. DOI: 10.1016/S1473-3099(15)70051-4.

LIMA, A. P. C.; TESSIER, D. C.; THOMAS, D. Y.; SCHARFSTEIN, J.; STORER, A. C.; VERNET, T. Identification of new cysteine protease gene isoforms in *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, [S. l.], v. 67, n. 2, p. 333–338, 1994. DOI: 10.1016/0166-6851(94)00144-8.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 82, n. 4, p. 327–333, 1999. DOI: 10.1016/S0304-4017(99)00054-0.

LIU, Z. K.; LI, J. Y.; PAN, H. Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. **Preventive Veterinary Medicine**, [S. l.], v. 118, n. 4, p. 488–492, 2015. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2014.12.017.

LIU, Z.; MA, M.; WANG, Z.; WANG, J.; PENG, Y.; LI, Y.; GUAN, G.; LUO, J.; YIN, H. Molecular survey and genetic identification of *Anaplasma* Species in goats from central and southern China. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 464–470, 2012. DOI: 10.1128/AEM.06848-11.

LOSOS, G. J. Infectious Tropical diseases of Domestic animals. Canadá: Longman Scientific & Technical, 1986.

LUCIANO, D. M.; MENEZES, R. C.; FERREIRA, L. C.; NICOLAU, J. L.; DAS NEVES, L. B.; LUCIANO, R. M.; DAHROUG, M. A. A.; AMENDOEIRA, M. R. R. Soroepidemiologia da toxoplasmose em caprinos e ovinos de três municípios do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 569–574, 2011. DOI: 10.1590/S0100-736X2011000700004.

MACHADO, C. A. L. et al. *Mycoplasma ovis* infection in goat farms from northeastern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 55, n. August, p. 1–5, 2017. DOI: 10.1016/j.cimid.2017.08.004.

MACHADO, G. P.; KIKUTI, M.; LANGONI, H.; PAES, A. C. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 182, n. 2–4, p. 356–358, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.021.

MACHADO, R. Z.; DUARTE, J. M. B.; DAGNONE, A. S.; SZABÓ, M. P. J. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 139, n. 1–3, p. 262–266, 2006. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.02.038.

MACIEIRA, D. B.; DE MENEZES, R. C. A. A.; DAMICO, C. B.; ALMOSNY, N. R. P.; MCLANE, H. L.; DAGGY, J. K.; MESSICK, J. B. Prevalence and risk factors for hemoplasmas in domestic cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and/or feline leukemia virus in Rio de Janeiro - Brazil. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 120–129, 2008. DOI: 10.1016/j.jfms.2007.08.002.

MADEIRA, N.; PADOVANI, C. R. Diversity of ectoparasites in sheep flocks in São Paulo, Brasil. **Tropical Animal Health and Production**, [S. l.], v. 97, n. 1–4, p. 131–141, 2000. DOI: 10.1023/A.

MAGGI, R. G.; COMPTON, S. M.; TRULL, C. L.; MASCARELLI, P. E.; ROBERT MOZAYENI, B.; BREITSCHWERDT, E. B. Infection with hemotropic *Mycoplasma* species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 51, n. 10, p. 3237–3241, 2013. DOI: 10.1128/JCM.01125-13.

MAIA, D.; ROSALINSKI-MORAES, F.; DE TORRES-ACOSTA, J. F.; CINTRA, M. C. R.; SOTOMAIOR, C. S. FAMACHA© system assessment by previously trained sheep and goat farmers in Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 209, n. 3–4, p. 202–209, 2015. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.02.033.

MASALA, G.; PORCU, R.; DAGA, C.; DENTI, S.; CANU, G.; PATTA, C.; TOLA, S. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 96–98, 2007. DOI: 10.1177/104063870701900116.

MASON, I. L. Evolution of domesticated animals. **New York: Longman Inc.**, [S. l.], p. 452, 1984.

MASSUNG, R. F.; SLATER, K.; OWENS, J. H.; NICHOLSON, W. L.; MATHER, T. N.; SOLBERG, V. B.; OLSON, J. G. Nested PCR assay for detection of granulocytic ehrlichiae. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 1090–1095, 1998. DOI: 10.1128/jcm.36.4.1090-1095.1998.

MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. The Piroplasms: Life Cycle and Sexual Stages. [s.l: s.n.]. v. 23 DOI: 10.1016/S0065-308X(08)60285-7.

MELO, S. A.; BARROS, A. C. E.; COSTA, F. B.; NETA, A. V. C.; GUERRA, R. M. N. C.; ABREU-SILVA, A. L. Bovine trypanosomiasis an emerging disease in Maranhão State-Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 11, n. 7, p. 853–856, 2011. DOI: 10.1089/vbz.2010.0107.

MENESES, R. M. Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: soroprevalência e fatores de risco. 2016. **Universidade Federal de Minas Gerais**, [S. l.], 2016.

MESSICK, J. B. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 2–13, 2004. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2004.tb00342.x.

MONGRUEL, A. C. B. et al. Survey of vector-borne and nematode parasites involved in the etiology of anemic syndrome in sheep from Southern Brazil. **Revista Brasileira de**

Parasitologia Veterinaria, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 1–12, 2020. DOI: 10.1590/s1984-29612020062.

MORZARIA, P. Theileriosis. **International Livestock Research Institute**, [S. l.], 1998.
MOUNT, R.; SCHICK, A. E.; LEWIS, T. P.; NEWTON, H. M. Evaluation of bacterial contamination of clipper blades in small animal private practice. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [S. l.], v. 52, n. 2, p. 95–101, 2016. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-6355.

MUNDERLOH, U. G.; TATE, C. M.; LYNCH, M. J.; HOWERTH, E. W.; KURTTI, T. J.; DAVIDSON, W. R. Isolation of an *Anaplasma* sp. organism from white-tailed deer by tick cell culture. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 41, n. 9, p. 4328–4335, 2003. DOI: 10.1128/JCM.41.9.4328-4335.2003.

MURRAY, M.; MURRAY, P. K.; MCINTYRE, W. I. M. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 71, n. 4, p. 325–326, 1977. DOI: 10.1016/0035-9203(77)90110-9.

NAGORE, D.; GARCÍA-SANMARTÍN, J.; GARCÍA-PÉREZ, A. L.; JUSTE, R. A.; HURTADO, A. Identification, genetic diversity and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in a sheep population from Northern Spain. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 34, n. 9, p. 1059–1067, 2004. DOI: 10.1016/j.ijpara.2004.05.008.

NANTULYA, V. M. Trypanosomiasis in domestic animals: the problems of diagnosis. **Revue scientifique et technique**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 357–367, 1990.

NASIR, A.; ASHRAF, M.; KHAN, M. S.; JAVEED, A.; YAQUB, T.; AVAIS, M.; REICHEL, M. P. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep and goats in Pakistan. **Journal of Parasitology**, [S. l.], v. 98, n. 1, p. 213–215, 2012. DOI: 10.1645/GE-2863.1.

NESPOLO, C. R.; BIANCHI, A. E.; QUEIRÓS, A. A.; FATINATTI, L. H. E. A. A produção de leite ovino e seus derivados no oeste catarinense: uma alternativa para o produtor e para o consumidor. In: ANAIS DO SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR 2012, Gramado. **Anais [...]**. Gramado

NOGUEIRA, R. M. S.; SILVA, A. B.; SATO, T. P.; SÁ, J. C.; SANTOS, A. C. G.; FILHO, E. F. A.; VALE, T. L.; GAZÊTA, G. S. Molecular and serological detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Maranhão, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S. l.], v. 37, n. 12, p. 1416–1422, 2017. DOI: 10.1590/S0100-736X2017001200010.

OBAIDAT, M. M.; SALMAN, A. E. B. *Anaplasma* spp. in dairy ruminants in Jordan: high individual and herd-level seroprevalence and association with abortions. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 481–484, 2019. DOI: 10.1177/1040638719843171.

OCHIRKHUU, N.; KONNAI, S.; ODBILEG, R.; MURATA, S.; OHASHI, K. Molecular Epidemiological Survey and Genetic Characterization of *Anaplasma* Species in Mongolian Livestock. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 17, n. 8, p. 539–549, 2017. DOI:

10.1089/vbz.2017.2111.

ORTIZ, E. B.; MÚRCIA, N. G.; TRUJILLO, V. V.; CAMACHO, D. G.; ROZO, M. L.; CONTRERAS, A. M. S. Pulicosis por *Ctenocephalides felis felis* en ovinos y caprinos en la sabana de Bogotá, Colombia Efraín. **Revista de Medicina Veterinaria**, [S. l.], v. 19, n. Enero-junio, p. 123–135, 2010.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; DA COSTA, S. C. G. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: Its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - A review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 103, n. 1, p. 1–13, 2008. DOI: 10.1590/S0074-02762008000100001.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; DAY, M. J. One Health: The global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. **Parasites and Vectors**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 1–10, 2011. DOI: 10.1186/1756-3305-4-197.

PARTOANDAZANPOOR, A.; SADEGHI-DEHKORDI, Z.; EKRADI, L.; KHORDADMEHR, M.; RASSOULI, M.; SAZMAND, A. Molecular Diagnosis and Pathological Study of *Toxoplasma gondii* in Aborted Caprine and Ovine Fetuses in Borderline of Iran–Iraq. **Acta Parasitologica**, [S. l.], v. 65, n. 1, p. 187–192, 2020. DOI: 10.2478/s11686-019-00147-4.

PASSOS, L. M. F.; BELL-SAKYI, L.; BROWN, C. G. D. Immunochemical characterization of in vitro culture-derived antigens of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 76, n. 4, p. 239–249, 1998. DOI: 10.1016/S0304-4017(98)00095-8.

PENNA, C. F. A. M. Produção e parâmetros de qualidade de leite e queijos de ovelhas Lacaune Santa Inês e suas mestiças submetidas a dietas elaboradas com soja ou linhaça. 2011. **Universidade Federal de Minas Gerais**, [S. l.], 2011.

PEREGRINE, A. S. Chemotherapy and delivery systems: haemoparasites. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 54, n. 1–3, p. 223–248, 1994. DOI: 10.1016/0304-4017(94)90092-2.

PEREIRA, K. A. G. et al. Transplacental transmission of *Neospora caninum* to lambs in successive pregnancies of naturally infected sheep in Southern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, [S. l.], v. 23, n. October 2020, p. 100537, 2021. DOI: 10.1016/j.vprsr.2021.100537.

PHILBEY, A. W.; BARRON, R. C. J.; GOUNDEN, A. Chronic eperythrozoonosis in an adult ewe. **Veterinary Record**, [S. l.], v. 158, n. 19, p. 662–664, 2006. DOI: 10.1136/vr.158.19.662.

PULGARIN, L. S. A.; RESTREPO, A. A.; GUEVARA, J. A. J.; ECHEVERRY, D. P.; VÉLEZ, R. V.; SALAS, R. Z. Hemoparasite infection in goats and sheep at five municipalities in north and northeastern Antioquia (Colombia). **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 14–24, 2014. DOI: 10.21615/2830.

PULINA, G.; NUDDA, A. **Dairy sheep nutrition**. London: CABI Publishing, 2004.

- QIU, H. et al. Molecular Detection of *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. in Ruminants from Twelve Provinces of China. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, [S. l.], 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9183861>.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicine**. 9. ed. London: Saunders, 2000.
- RAHBARI, S.; NABIAN, S.; KHAKI, Z.; ALIDADI, N.; ASHRAFIHELAN, J. Clinical, haematologic and pathologic aspects of experimental ovine babesiosis in Iran. **Iranian Journal of Veterinary Research**, [S. l.], v. 9, p. 59–64, 2008.
- RAMOS, R. N. et al. Detecção de anticorpos para *Anaplasma* sp. em pequenos ruminantes no semi-árido do estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. 115–117, 2008. DOI: 10.1590/s1984-29612008000200011.
- RANCOURT, M.; FOIS, N.; LAVÍN, M. P.; TCHAKÉRIAN, E.; VALLERAND, F. Mediterranean sheep and goats production: An uncertain future. **Small Ruminant Research**, [S. l.], v. 62, n. 3, p. 167–179, 2006. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2005.08.012.
- RAO, V. N. A.; PALANISWAMI, K. S.; GHELLAPPA, D. J.; JOSEPH, S. A.; GNANABARANAM, J. F. A report of concurrent haemoprotozoan and rickettsial infection in sheep. **Indian Veterinary Journal**, [S. l.], p. 487–488, 1991.
- RÊGO, W. M. F. et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in goats and sheep raised in the State of Piauí in northeast Brazil. **Small Ruminant Research**, [S. l.], v. 141, p. 17–23, 2016. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2016.04.010.
- RENNEKER, S. et al. Can *Anaplasma ovis* in Small Ruminants be Neglected any Longer? **Transboundary and Emerging Diseases**, [S. l.], v. 60, n. SUPPL.2, p. 105–112, 2013. DOI: 10.1111/tbed.12149.
- REVERS, L. M.; DANIELLI, A. J.; ILTCHENCO, S.; ZENI, J.; STEFFENS, C.; STEFFENS, J. Obtenção e caracterização de iogurtes elaborados com leites de ovelha e de vaca. **Revista Ceres**, [S. l.], v. 63, n. 6, p. 747–753, 2016. DOI: 10.1590/0034-737X201663060001.
- RIKIHISA, Y. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: Subversive manipulators of host cells. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 328–339, 2010. DOI: 10.1038/nrmicro2318.
- ROCCHIGIANI, G.; EBANI, V. V.; NARDONI, S.; BERTELLONI, F.; BASCHERINI, A.; LEONI, A.; MANCIANTI, F.; POLI, A. Molecular survey on the occurrence of arthropod-borne pathogens in wild brown hares (*Lepus europaeus*) from Central Italy. **Infection, Genetics and Evolution**, [S. l.], v. 59, n. January, p. 142–147, 2018. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.02.005.
- ROHENKOHL, J. E.; CORRÊA, G. F.; AZAMBUJA, D. F.; FERREIRA, F. R. O agronegócio de leite de ovinos e caprinos. **Revista Indicadores Econômicos**, Porto Alegre, v. 39, n. 2, p. 97–114, 2011.

ROSSI, G. F.; CABRAL, D. D.; RIBEIRO, D. P.; PAJUABA, A. C. A. M.; CORRÊA, R. R.; MOREIRA, R. Q.; MINEO, T. W. P.; MINEO, J. R.; SILVA, D. A. O. Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil, by different serological methods. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 175, n. 3–4, p. 252–259, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.10.017.

SALABERRY, S. R. S.; OKUDA, L. H.; NASSAR, A. F. C.; CASTRO, J. R.; LIMA-RIBEIRO, A. M. C. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlândia county, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 148–151, 2010. DOI: 10.1590/s1984-29612010000300004.

SALIH, D. A.; ELHUSSEIN, A. M.; HAYAT, M.; TAHA, K. M. Survey of *Theileria lestoquardi* antibodies among Sudanese sheep. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 111, n. 4, p. 361–367, 2003. DOI: 10.1016/S0304-4017(02)00389-8.

SAMPAIO, P. H.; JUNIOR, O. L. F.; MARQUES, L. C.; MACHADO, R. Z.; BARNABÉ, P. A.; ANDRÉ, M. R.; BALBUENA, T. S.; CADIOLI, F. A. Acute-phase protein behavior in dairy cattle herd naturally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 211, n. 3–4, p. 141–145, 2015. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.05.014.

SANTOS, H. A.; PIRES, M. S.; VILELA, J. A. R.; SANTOS, T. M.; FACCINI, J. L. H.; BALDANI, C. D.; THOMÉ, S. M. G.; SANAVRIA, A.; MASSARD, C. L. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in brazilian dogs by real-time polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S. l.], v. 23, n. 4, p. 770–774, 2011. DOI: 10.1177/1040638711406974.

SANTOS, T. R.; FARIA, G. S. M.; GUERREIRO, B. M.; DAL PIETRO, N. H. P. S.; LOPES, W. D. Z.; SILVA, H. M.; GARCIA, J. L.; LUVIZOTTO, M. C. R.; BRESCIANI, K. D. SCOSTA, A. J. Congenital toxoplasmosis in chronically infected and subsequently challenged ewes. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 1–17, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0165124.

SCHEAFFER, R. L.; MEDENHALL, W.; OTT, R. L. Elementary Survey Sampling. Estados Unidos da América: **Duxbury Press**, 1996.

SCHNITTGER, L.; YIN, H.; GUBBELS, M. J.; BEYER, D.; NIEMANN, S.; JONGEJAN, F.; AHMED, J. S. Phylogeny of sheep and goat *Theileria* and *Babesia* parasites. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 91, n. 5, p. 398–406, 2003. DOI: 10.1007/s00436-003-0979-2.
SENEVIRATNA, N. Transmission of *Haemobartonella canis* by the Dog Tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Res. vet. Sci.**, [S. l.], p. 112–114, 1973.

SEQUEIRA, T. C. G. O.; AMARANTE, A. F. T. **Parasitologia animal**. Rio de Janeiro: EPUB, 2001.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, [S. l.], v. 66, n. 1, p. 25–32, 1972. DOI: 10.1080/00034983.1972.11686794.

SHAW, S. E.; KENNY, M. J.; TASKER, S.; BIRTLES, R. J. Pathogen carriage by the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) in the United Kingdom. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 102, n. 3–4, p. 183–188, 2004. DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.06.013.

SILVA, D. F. M.; COSTA, J. N.; ARAÚJO, A. L.; NETO, A. O. C.; ALMEIDA, M. A. O.; CARVALHO, V. S. Proteinograma Sérico De Cordeiros Mestiços (Santa Inês X Dorper) Do Nascimento Até O Desmame: Efeito Do Desenvolvimento Etário E Do Monitoramento Da Ingestão Do Colostro. **Ciência Animal Brasileira**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 794–805, 2010. DOI: 10.5216/cab.v11i4.4848.

SILVA, N. B. et al. First report of *Anaplasma marginale* infection in goats, Brazil. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 13, n. 8, p. 1–6, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0202140.

SILVEIRA, J. A. G.; DE OLIVEIRA, C. H. S.; SILVESTRE, B. T.; ALBERNAZ, T. T.; LEITE, R. C.; BARBOSA, J. D.; OLIVEIRA, C. M. C.; RIBEIRO, M. F. B. Molecular assays reveal the presence of *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in Asian water buffaloes (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in the Amazon region of Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 1017–1023, 2016. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.05.009.

SILVEIRA, J. A. G.; RABELO, E. M. L.; RIBEIRO, M. F. B. Molecular Detection of Tick-Borne Pathogens of the Family Anaplasmataceae in Brazilian Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) and Marsh Deer (*Blastocerus dichotomus*, Illiger, 1815). **Transboundary and Emerging Diseases**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 353–360, 2012. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2011.01278.x.

SONG, W.; SONG, Q.; HE, L.; ZHOU, Y.; ZHAO, J. The establishment and application of a semi-nested PCR assay for the detection of *Mycoplasma ovis*. **Small Ruminant Research**, [S. l.], v. 119, n. 1–3, p. 176–181, 2014. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2014.03.001.

SOTOMAIOR, C. S.; MORAES, F. R.; SOUZA, F. P.; MILCZEWSKI, V.; PASQUALIN, C. A. Parasitoses gastrintestinais dos ovinos e caprinos: alternativas de controle. **Instituto EMATER**. Curitiba, 2009.

SOUZA, U. A.; OBERRATHER, K.; FAGUNDES-MOREIRA, R.; DE ALMEIDA, B. A.; VALLE, S. F.; GIROTTO-SOARES, A.; SOARES, J. F. First molecular detection of *Mycoplasma ovis* (Hemotropic mycoplasmas) from sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 28, n. 3, p. 360–366, 2019. DOI: 10.1590/s1984-29612019022.

STUEN, S.; GRANQUIST, E. G.; SILAGHI, C. *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 4, n. JUL, p. 1–33, 2013. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00031.

SUARÉZ-ARANDA, F.; GALISTEO, A. J.; HIRAMOTO, R. M.; CARDOSO, R. P. A.; MEIRELES, L. R.; MIGUEL, O.; ANDRADE, H. F. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 91, n. 1–2, p. 23–32, 2000. DOI: 10.1016/S0304-4017(00)00249-1.

SUAZO-CORTEZ, R.; MARTÍNEZ-HERRERA, D. I.; PARDÍO-SEDAS, V. T.; CRUZ-VÁZQUEZ, C. R.; MORALES-ÁLVAREZ, J. F.; SÁNCHEZ-VIVEROS, G.; GALINDO-TOVAR, M. E. Seroprevalence and risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in sheep of veracruz state, southeast Mexico. **Veterinary Research Forum**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 77–81, 2020. DOI: 10.30466/vrf.2019.96751.2313.

- SUTHERST, R. W.; COMINS, H. N. T. The management of acaricide resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae), in Australia. **Bulletin of Entomology Research**, [S. l.], v. 69, p. 519–537, 1979.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, [S. l.], v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
- TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- TESOLINI, P. M. A.; LEÃO, A. G. C.; BELTRAME, M. A. V.; GUMIEIRO, M. V.; BARIONI, G. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da raça Santa Inês na região da Grande Vitória, estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 38–41, 2012. DOI: 10.4322/rbcv.2014.080.
- THOMAS, R. J.; DUMLER, J. S.; CARLYON, J. A. Current management of human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis and *Ehrlichia ewingii* ehrlichiosis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 709–722, 2009.
- TIAN, Z.; LIU, G.; YIN, H.; XIE, J.; WANG, S.; YUAN, X.; WANG, F.; LUO, J. First report on the occurrence of *Theileria* sp. OT3 in China. **Parasitology International**, [S. l.], v. 63, n. 2, p. 403–407, 2014. DOI: 10.1016/j.parint.2013.12.014.
- TIZARD, I. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.
- TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, [S. l.], v. 21, n. 12, p. 558–561, 2005. DOI: 10.1016/j.pt.2005.09.005.
- TUFF, D. A key to the lice of man and domestic animals. **Texas Journal of Science**, [S. l.], 1977.
- UENO, H.; GONÇALVES, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. **JICA**, [S. l.], v. 4, p. 166, 1998.
- UILENBERG, G. Theilerial Species of Domestic Livestock. **Advances in the Control of Theileriosis**, [S. l.], p. 4–37, 1981. DOI: 10.1007/978-94-009-8346-5_2.
- UILENBERG, G. General review of tick-borne diseases of sheep and goats world-wide. **Parasitologia**, [S. l.], p. 161–165, 1997.
- UILENBERG, G. Babesiosis. In: **Encyclopedia of arthropod-transmitted infection of man and domestic animals**. [s.l.] : Wallingford, 2001. p. 53–60.
- UILENBERG, G. *Babesia*-A historical overview. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 138, n. 1–2, p. 3–10, 2006. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.01.035.
- URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VAN WYK, J. A.; BATH, G. F. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary research**, [S. l.], v. 33, p. 509–529, 2002. DOI: 10.1051/vetres.

VIANA, J. G. A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, [S. l.], v. 4, n. 12, p. 1–9, 2008.

WHITELAW, D. D.; GARDINER, P. R.; MURRAY, M. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. **Parasitology**, [S. l.], v. 97, n. 01, p. 51, 1988. DOI: 10.1017/S0031182000066737.

WILLI, B. et al. Real-time PCR investigation of potential vectors, reservoirs, and shedding patterns of feline hemotropic mycoplasmas. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 73, n. 12, p. 3798–3802, 2007. DOI: 10.1128/AEM.02977-06.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 27, n. 4, p. 384–386, 1970.

WOODS, J. E.; BREWER, M. M.; HAWLEY, J. R.; WISNEWSKI, N.; LAPPIN, M. R. Evaluation of experimental transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. **American Journal of Veterinary Research**, [S. l.], v. 66, n. 6, p. 1008–1012, 2005. DOI: 10.2460/ajvr.2005.66.1008.

WORMSER, G. P. Accuracy of diagnosis of human granulocytic anaplasmosis in China. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 22, n. 10, p. 1728–1731, 2016. DOI: 10.3201/eid2210.160161.

YAMAGE, M.; FLECHTNER, O.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum*: Specific oligonucleotide primers for the detection of brain “cyst” DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). **Journal of Parasitology**, [S. l.], v. 82, n. 2, p. 272–279, 1996. DOI: 10.2307/3284160.

YAN, X.; HAN, W.; WANG, Y.; ZHANG, H.; GAO, Z. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep in Inner Mongolia Province, China. **Parasite**, [S. l.], v. 27, n. 11, 2020. DOI: 10.1051/parasite/2020008.

YANG, J. et al. A novel zoonotic *Anaplasma* species is prevalent in small ruminants: potential public health implications. **Parasites and Vectors**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1–6, 2017. DOI: 10.1186/s13071-017-2182-9.

YERUHAM, I.; HADANI, A.; GALKER, F. Some epizootiological and clinical aspects of ovine babesiosis caused by *Babesia ovis* - A review. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 74, n. 2–4, p. 153–163, 1998. DOI: 10.1016/S0304-4017(97)00143-X.

YERUHAM, I.; HADANI, A.; GALKER, F.; ROSEN, S. A study of an enzootic focus of sheep babesiosis (*Babesia ovis*, Babes, 1892). **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 60, n. 3–4, p. 349–354, 1995. DOI: 10.1016/0304-4017(95)00783-7.

YOUSEFI, A.; RAHBARI, S.; SHAYAN, P.; SADEGHI-DEHKORDI, Z.; BAHONAR, A.

Molecular detection of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* in sheep and goat in west highland pasture of Iran. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 455–459, 2017. DOI: 10.1016/j.apjtb.2017.01.017.


ZAEEMI, M.; HADDADZADEH, H.; KHAZRAIINIA, P.; KAZEMI, B.; BANDEHPOUR, M. Identification of different *Theileria* species (*Theileria lestoquardi*, *Theileria ovis*, and *Theileria annulata*) in naturally infected sheep using nested PCR-RFLP. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 108, n. 4, p. 837–843, 2011. DOI: 10.1007/s00436-010-2119-0.

ZAHLER, M.; RINDER, H.; SCHEIN, E.; GOTHE, R. Detection of a new pathogenic *Babesia* microti-like species in dogs. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 89, n. 3, p. 241–248, 2000. DOI: 10.1016/S0304-4017(00)00202-8.

ZHANG, H. et al. First report of *Ehrlichia* infection in goats, China. **Microbial Pathogenesis**, [S. l.], v. 110, p. 275–278, 2017. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.07.012.

ANEXO

Anexo 1 – Comprovante de aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais

 UFMG	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS CEUA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Prezado(a):	
Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.	
Protocolo CEUA: 87/2020	
Título do projeto: Caracterização epidemiológica das principais doenças de ovinos em rebanhos comerciais de ovinos leiteiros do Brasil	
Finalidade: Pesquisa	
Pesquisador responsável: Maria Isabel Maldonado Coelho Guedes	
Unidade: Escola de Veterinária	
Departamento: Departamento de Medicina Veterinária Preventiva	
 Situação atual: Decisão Final - Aprovado	
Aprovado na reunião "on line" do dia 31/08/2020. Validade: 31/08/2020 à 30/08/2025.	
Belo Horizonte, 31/08/2020.	
Atenciosamente,	
Sistema Solicite CEUA UFMG https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/	
Universidade Federal de Minas Gerais Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005 31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil Telefone: (31) 3409-4516	

Anexo 2 – Questionário zoonitário aplicado nas propriedades em que foram realizadas coletas

IDENTIFICAÇÃO			
Propriedade:		Data:	
Proprietário:		Tel:	
E-mail:			
Endereço:			
Cidade:			
Funcionários:			

REBANHO			
Espécie:	<input type="checkbox"/> Caprinos	<input type="checkbox"/> Ovinos	Número de animais:
Sistema:	<input type="checkbox"/> Extensivo	<input type="checkbox"/> Intensivo	<input type="checkbox"/> Semi-extensivo
Raça predominante:			
Finalidade :	<input type="checkbox"/> Leite	<input type="checkbox"/> Corte	<input type="checkbox"/> Misto
Compra e venda de animais:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Presença de bovinos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Presença de suínos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Presença de cães:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Presença de gatos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Onde: <input type="checkbox"/> Pasto <input type="checkbox"/> Baias <input type="checkbox"/> Galpões de alimentos
Presença de cavalos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Presença de aves:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Contato com animais silvestres:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Quais:
Contato direto com animais de outras fazendas:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Quais:

INSTALAÇÕES			
Tipo de instalação:			
Uso de pastagens comunitárias:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Uso de esterco como fertilizante:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Limpeza das instalações:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Desinfecção das instalações:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Como:
Água:	Origem:	<input type="checkbox"/> Limpa	<input type="checkbox"/> Disponível
	Bebedouro:	<input type="checkbox"/> Individual	<input type="checkbox"/> Coletivo
Cocho:		<input type="checkbox"/> Individual	<input type="checkbox"/> Coletivo <input type="checkbox"/> Coberto
		<input type="checkbox"/> Chão	<input type="checkbox"/> Suspenso
Obs:			

OBSERVAÇÕES GERAIS

Fonte: elaborado pelo autor.



Experimento Morgana Resende
QUESTIONÁRIO ZOOSANITÁRIO

SANIDADE				
Vacinas utilizadas (Categorias / Esquema / Frequência):				
Histórico de enfermidades:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Quais:	Faixa etária:
Anemia:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Faixa etária mais frequente:	
Edema submandibular (papeira):	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Realização de FAMACHA:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Diagnóstico de endoparasito:	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> OPG	<input type="checkbox"/> Coprocultura	Qual:
Moscas no ambiente:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Moscas hematófagas animais:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Presença de carrapatos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Presença de sarnas:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Presença de piolho/pulga:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Presença de roedores:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Controle de moscas:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual:	
Controle de ectoparasitos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual:	
Controle de endoparasitos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual:	
Controle de roedores:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual:	
Reuso de agulhas e seringas:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
	Se sim:	Desinfecção:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não Como:
REPRODUÇÃO				
Técnica reprodutiva:	<input type="checkbox"/> Monta natural	<input type="checkbox"/> IATF	Outro:	
Distúrbios reprodutivos:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Repetição de cio:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Aborto:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Natimorto:	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Destino de restos placentários e fetos:				
OBSERVAÇÕES GERAIS				

Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE

Apêndice 1 – Resultados individuais da pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e avidéz de IgG por ELISA em soros de 267 ovinos do estado de Minas Gerais, Brasil, 2020

Identificação	Índice de reatividade	Índice de avidéz (%)
1	1,66	75,42
2	1,51	71,64
3	1,54	69,95
4	1,61	85,90
5	1,59	82,68
6	1,20	91,46
7	1,42	77,06
8	0,89	NR*
9	1,82	90,63
10	1,46	83,42
11	0,62	NR*
12	1,85	95,12
13	1,32	57,86
14	0,44	NR*
15	0,89	NR*
16	0,59	NR*
17	1,45	99,45
18	0,64	NR*
19	1,47	83,05
20	1,34	74,13
21	0,40	NR*
22	1,23	74,54
23	0,64	NR*
24	0,80	NR*
25	0,44	NR*
26	1,54	94,78
27	0,52	NR*
28	1,15	85,34
29	0,25	NR*
30	1,39	88,03
31	1,29	74,31
32	0,30	NR*
33	0,51	NR*
34	0,72	NR*
35	1,64	80,44
36	0,29	NR*
37	1,15	65,42
38	0,53	NR*

39	1,24	66,57
40	0,36	NR*
41	1,64	63,16
42	0,52	NR*
43	1,58	72,43
44	1,12	75,10
45	0,73	NR*
46	1,07	83,33
47	1,01	39,77**
48	1,25	84,82
49	0,28	NR*
50	0,44	NR*
51	1,25	86,33
52	1,21	67,57
53	0,90	NR*
54	0,89	NR*
55	0,34	NR*
56	1,68	52,74
57	2,24	92,92
58	1,70	63,74
59	0,30	NR*
60	0,60	NR*
61	0,51	NR*
62	0,48	NR*
63	0,38	NR*
64	0,20	NR*
65	0,27	NR*
66	0,63	NR*
67	1,70	45,03**
68	0,35	NR*
69	0,40	NR*
70	0,38	NR*
71	0,33	NR*
72	0,20	NR*
73	0,13	NR*
74	0,46	NR*
75	0,56	NR*
76	1,28	≥100
77	0,39	NR*
78	0,57	NR*
79	0,62	NR*
80	1,32	≥100
81	2,01	86,21
82	1,18	69,91
83	0,45	NR*

84	0,33	NR*
85	0,79	NR*
86	0,35	NR*
87	0,58	NR*
88	0,80	NR*
89	0,45	NR*
90	0,36	NR*
91	0,50	NR*
92	0,26	NR*
93	0,44	NR*
94	0,29	NR*
95	0,43	NR*
96	0,45	NR*
97	0,47	NR*
98	0,22	NR*
99	0,34	NR*
100	0,19	NR*
101	0,31	NR*
102	0,37	NR*
103	1,17	70,59
104	1,14	94,71
105	0,57	NR*
106	0,14	NR*
107	0,07	NR*
108	0,19	NR*
109	0,35	NR*
110	0,68	NR*
111	0,32	NR*
112	0,43	NR*
113	1,48	95,30
114	1,37	96,08
115	2,22	≥100
116	0,17	NR*
117	0,23	NR*
118	0,31	NR*
119	2,46	81,59
120	0,42	NR*
121	0,42	NR*
122	0,45	NR*
123	0,73	NR*
124	0,21	NR*
125	0,65	NR*
126	0,42	NR*
127	0,46	NR*
128	0,40	NR*

129	0,25	NR*
130	0,24	NR*
131	0,24	NR*
132	1,71	≥100
133	0,68	NR*
134	0,25	NR*
135	0,80	NR*
136	0,77	NR*
137	1,71	67,32
138	0,22	NR*
139	0,21	NR*
140	0,22	NR*
141	0,69	NR*
142	0,32	NR*
143	0,31	NR*
144	0,36	NR*
145	0,38	NR*
146	0,25	NR*
147	0,19	NR*
148	0,10	NR*
149	0,46	NR*
150	2,06	84,31
151	2,36	91,79
152	1,83	68,31
153	0,72	NR*
154	0,30	NR*
155	0,40	NR*
156	0,45	NR*
157	1,36	47,32
158	0,45	NR*
159	0,32	NR*
160	0,57	NR*
161	0,66	NR*
162	0,57	NR*
163	0,52	NR*
164	0,45	NR*
165	0,29	NR*
166	1,78	61,46
167	0,57	NR*
168	0,61	NR*
169	0,48	NR*
170	0,38	NR*
171	0,88	NR*
172	0,17	NR*
173	1,92	≥100

174	0,18	NR*
175	0,57	NR*
176	0,29	NR*
177	0,26	NR*
178	2,18	≥100
179	0,12	NR*
180	0,29	NR*
181	0,39	NR*
182	0,15	NR*
183	0,14	NR*
184	0,11	NR*
185	0,26	NR*
186	0,26	NR*
187	0,22	NR*
188	0,34	NR*
189	0,22	NR*
190	0,36	NR*
191	0,26	NR*
192	0,22	NR*
193	0,27	NR*
194	0,45	NR*
195	0,17	NR*
196	0,20	NR*
197	0,23	NR*
198	0,24	NR*
199	0,24	NR*
200	0,41	NR*
201	0,20	NR*
202	0,37	NR*
203	0,45	NR*
204	0,05	NR*
205	0,21	NR*
206	0,25	NR*
207	0,43	NR*
208	0,28	NR*
209	0,40	NR*
210	0,35	NR*
211	0,18	NR*
212	0,17	NR*
213	0,26	NR*
214	0,23	NR*
215	0,38	NR*
216	0,24	NR*
217	0,28	NR*
218	0,37	NR*

219	0,24	NR*
220	0,23	NR*
221	0,20	NR*
222	0,09	NR*
223	0,22	NR*
224	0,27	NR*
225	2,36	95,97
226	0,36	NR*
227	2,17	80,35
228	2,22	93,63
229	2,58	91,81
230	0,28	NR*
231	0,31	NR*
232	0,13	NR*
233	0,20	NR*
234	0,26	NR*
235	0,10	NR*
236	0,19	NR*
237	0,24	NR*
238	0,24	NR*
239	0,21	NR*
240	0,39	NR*
241	0,37	NR*
242	0,12	NR*
243	1,94	81,75
244	0,18	NR*
245	0,77	NR*
246	0,37	NR*
247	0,41	NR*
248	0,18	NR*
249	1,88	86,24
250	0,40	NR*
251	0,34	NR*
252	0,22	NR*
253	0,73	NR*
254	0,33	NR*
255	0,56	NR*
256	0,43	NR*
257	0,24	NR*
258	0,50	NR*
259	0,50	NR*
260	0,33	NR*
261	0,17	NR*
262	0,52	NR*
263	0,61	NR*

264	0,13	NR*
265	0,22	NR*
266	0,53	NR*
267	0,48	NR*

Propriedade 1: ovinos 1 a 68; propriedade 2: ovinos 69 a 116; propriedade 3: ovinos 117 a 171; propriedade 4: ovinos 172 a 267.

*NR: Não Realizado. O animal não tinha anticorpos específicos anti-*T. gondii*.

**Índice de avidéz de IgG inferior a 50%.