

Ana Carolina de Aguiar Vasconcelos Carneiro

**Soro-epidemiologia da Toxoplasmose
Caprina e Ovina no Estado
de Minas Gerais**



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
2006

ANA CAROLINA DE AGUIAR VASCONCELOS CARNEIRO

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA
TOXOPLASMOSE CAPRINA E OVINA
NO ESTADO DE MINAS GERAIS**

**Belo Horizonte
Minas Gerais
2006**

Ana Carolina de Aguiar Vasconcelos Carneiro

SOROEPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE CAPRINA E OVINA NO ESTADO DE MINAS GERAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Parasitologia.

Área de concentração: Protozoologia

Orientador: Dr. Ricardo Wagner de Almeida Vitor

Co-orientadoras: Dra. Aurora Maria G. Gouveia
Dra. Mariângela Carneiro

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Belo Horizonte, MG
2006

Trabalho realizado no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, com o auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Meus agradecimentos ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia, na pessoa do professor Pedro Marcos Linardi, Coordenador da Pós-graduação do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, pelo apoio e incentivo.

Dedico este trabalho à pessoa que com sua sabedoria, dedicação e carinho me apresentou o mundo da ciência, e que me ensinou e continua a me ensinar a fazer pesquisa. Prof. Ricardo, serei sempre grata pelos ensinamentos, incentivos e acima de tudo pela confiança e amizade. Obrigada por fazer parte da minha formação!

“Fundamental é mesmo o amor, é impossível ser feliz
sozinho...”
Tom Jobim

AGRADECIMENTOS

- Agradeço primeiramente a Deus, por minha maravilhosa vida, e por Ele ter colocado pessoas tão especiais em meu caminho. Nossa Senhora Aparecida, São Judas Tadeu, Santo Antônio e São Jorge pela proteção!
- A minha família, fonte de inspiração constante, por TUDO! Aos meus pais, José Geraldo e Vânia, pela base, carinho, amor, apoio, e por servirem de referências de vida e exemplos de dignidade pra mim. Aos meus irmãos, Filipe e Marco, Luan e Vitor, pelo companheirismo, carinho, torcida, e incentivo. À Arésia por estar sempre aos nossos lados, obrigada por fazer parte da nossa família!
- À toda minha família: vó Modesta, vó Flor, tio Alziro, tia Mirissan, Guigui, Dindinha Delza, todos tios, tias e primos, que sempre torceram, vibraram e rezaram muito por mim.
- Ao meu Orientador, Professor Dr. Ricardo Wagner de Almeida Vitor, que além de toda a dedicação a este nosso trabalho, sempre me incentivou a buscar o conhecimento. Obrigado por ser para mim mais do que um orientador, encontrei em você um amigo, exemplo de pessoa e de profissional. Obrigada por tudo!
- À minha co-orientadora, Professora Dra. Mariângela Carneiro, pelas idéias e sugestões neste trabalho e pelo enorme carinho e paciência comigo durante os ensinamentos com os pacotes estatísticos.
- À co-orientadora, Professora Dra. Aurora Maria Guimarães Gouveia, pelo entusiasmo com a caprinovinocultura nesse país e por ter cedido os bancos de soros e questionários para a realização deste estudo.
- Ao Professor Dr. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro, pela atenção em relatar este trabalho, pelas críticas, sugestões e contribuições.
- Ao Dr. Odilon Vidotto por fornecer gentilmente soros controle de ovinos.
- À Rosálida Estevan Nazar Lopes, pela enorme colaboração e apoio técnico na realização deste trabalho. Muito obrigado Rosa, pela dedicação, paciência, ensinamentos, carinho e por tornar o convívio muito mais alegre no laboratório! Você é maravilhada!!!
- Aos amigos do Laboratório de Toxoplasmose: Geane, Viviane, Letícia, Marianni em especial ao Lucas e à Aline, meus anjos da guarda nessa caminhada. Obrigada pelo

apoio, carinho e acompanhamento na realização deste trabalho; Lucas por trazer empolgação, vibrar com nossos resultados e pela disposição de sempre! Aline pela simpatia e tranquilidade completando assim nosso time perfeito! Essa vitória é nossa!

- À Dra. Adriana Melo Ferreira pelos ensinamentos, amizade e contribuição para minha formação profissional.

- À todos os colegas do Laboratório de Epidemiologia, em especial à Elizabeth, Andréa, Rosângela, Roberta, pela paciência e ajuda prestada.

- À turma do Bico por ter sido essencial nesta etapa da minha vida. Sejam em forma de músicas, conversas, saídas, discussões, congressos, viagens ou simplesmente pela convivência, TODOS se tornaram especiais.

- Elisa e Vânia ("AH UHUH AH!"), por serem mais do que amigas... Obrigada pela presença constante, por participarem tão ativamente na minha vida nos últimos dois anos. Pessoas tão diferentes... Mas uma amizade verdadeira! União, amizade, companheirismo, alegria são palavras que me remetem à LIGA! Esse trio vai longe!!! Vocês fazem parte da minha vida e foram essenciais nessa minha caminhada. Obrigada!

- Michel e Andrey pelo exemplo de dedicação, determinação e amor à pesquisa. Aprendi a respeitar e compreender vocês... A admiração é grande e o carinho e a amizade que ficam são verdadeiros. Obrigada pela aprendizagem, discussões, ajudas e por se tornarem indispensáveis...

- Marcelle e Juliana: meninas dos pacotes! Muito boa a convivência com vocês. Sempre dispostas a ajudar, amigas e companheiras, sempre!

- Sílvia e Daniel. Cada um de seu jeito e com sua maneira foram muito importantes pra mim! Ora escutando minhas dúvidas ora comemorando comigo nossas vitórias! Obrigada pelo apoio e companheirismo. Adoro vocês!

- Haendel, Eveline e Bárbara, pela convivência e aprendizado durante o mestrado;

- Aos "anexos do bico": Mateus, Érica e Helen, pela alegria, apoio e torcida. À Ana Paula pela grande ajuda com os bancos de soros e dados. E aos amigos do Departamento de Parasitologia e todos os outros com quem convivi durante o mestrado, pelos momentos felizes e de descontração. Foram muito boas as conversas de corredores!

- Aos amigos do GIDE, Marco, Gustavo, Vitor, Hudson, Stênio, Diego, Wanderlaine, Sr. Aírton e Sr. Alberto, pelo carinho e convívio curto, mas muito agradável.
- Aos grandes amigos da Biologia, em especial a Flávia, Ludmila, Andréa, Renata, Nabak, Batata, Erikinha, Piu, Bruno, Nilo, Marcelo, Wagner, pela amizade sincera, pela torcida, e por todos os momentos vividos.
- Marina e Marcela, amigas e companheiras, por dividirem comigo esse momento de grandes aflições, dúvidas, entusiasmos, aprendizados e alegrias (Ai Don e Juan! Machuca o coração da gente!).
- Aos meus eternos amigos: meninas da SEITA (Clara, Júlia, Ana e Deby), Camila, Fábio, Rafa, Cris, André...
- À secretária da pós-graduação de parasitologia, Sumara, pelo grande apoio, por todos os conselhos, e pelo grande carinho e atenção dedicados a mim e a todos os alunos. Minha turma será eternamente grata a você! Obrigada, você é peça fundamental de nossas conquistas!
- Aos professores do Departamento de Parasitologia, em especial ao Professor Alan Lane de Melo, por ser um exemplo de pesquisador e mestre. Grandes ensinamentos dentro e fora da sala de aula.
- Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho, o meu muito obrigado! Como diria o poeta: "Fundamental é mesmo o amor, é impossível ser feliz sozinho..."

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XIV
RESUMO	XV
ABSTRACT	XVI
1- INTRODUÇÃO	01
1.1 -Biologia e transmissão do <i>Toxoplasma gondii</i>	02
1.2 -Ocorrência de <i>T. gondii</i> em caprino e ovinos utilizados para consumo humano	05
1.3 -Diagnóstico de toxoplasmose ovina e caprina	06
1.4 -Toxoplasmose em caprinos	08
1.5 -Toxoplasmose em ovinos	13
1.6 -Pequenos ruminantes – situação mundial e do Brasil	16
2- JUSTIFICATIVA	22
3- OBJETIVOS	25
3.1 -Objetivo geral	26
3.2 -Objetivos específicos	26
4- MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 -Marco amostral	28
4.2 -Amostragem e delineamento estatístico	31
4.3 -Questionários	32
4.4 -Coleta de sangue	33
4.5 -Provas Sorológicas	33
4.5.1 - Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI)	33
4.5.2 - Teste imunoenzimático ELISA para detecção de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	35
4.5.3 - Avaliação da avidéz de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> ..	39
4.6 -Confiabilidade dos Testes	40
4.7 -Processamento dos dados	41
4.8 -Análise dos dados	41
5- RESULTADOS	43
5.1 – Caprinos	44
5.1.1 -Comparação dos Testes: RIFI X ELISA	44
5.1.2 -Características Populacionais das amostras estudadas	46
5.1.3.-Análise descritiva das propriedades (Unidades Produtoras) estudadas com rebanho caprino	47
5.1.4.-Determinação da soro-prevalência da Toxoplasmose Caprina nas regiões Centro Oeste Sul do Estado de Minas Gerais	52
5.1.5.-Análises de fatores de risco	53
5.1.5.1 -Análise Univariada	53
5.1.5.2 -Análise Multivariada	54
5.1.6 -Avidéz de anticorpos IgG anti <i>Toxoplasma gondii</i> em caprinos.	60
5.2 –Ovinos	62
5.2.1 -Comparação dos Testes: RIFI X ELISA	62

5.2.2 -Características Populacionais das amostras estudadas	65
5.2.3.-Análise descritiva das propriedades (Unidades Produtoras) estudadas com rebanho ovino	67
5.2.4 -Determinação da soro-prevalência da Toxoplasmose Ovina nas regiões Centro Oeste Sul do Estado de Minas Gerais	68
5.2.5 -Análises de fatores de risco	72
5.2.5.1 -Análise Univariada	72
5.2.5.2 -Análise Multivariada	73
5.2.6 -Avidez de anticorpos IgG anti <i>Toxoplasma gondii</i> em ovinos	77
6- DISCUSSÃO	79
6.1 -Delineamento do Estudo e da População	80
6.2 –Caprinos	82
6.2.1 -Comparação dos Testes: RIFI X ELISA	82
6.2.2 -Determinação da soro-prevalência da Toxoplasmose Caprina nas regiões Centro Oeste Sul do Estado de Minas Gerais	85
6.2.3 -Fatores de Risco para a Toxoplasmose Caprina	92
6.2.4 -Determinação da Avidez de anticorpos IgG anti <i>T. gondii</i> em Caprinos	95
6.3 –Ovinos	97
6.3.1 -Comparação dos Testes: RIFI X ELISA	97
6.3.2 -Determinação da soro-prevalência da Toxoplasmose Ovina nas regiões Centro Oeste Sul do Estado de Minas Gerais	98
6.3.3 -Fatores de Risco para a Toxoplasmose Ovina	102
6.3.4 -Determinação da Avidez de anticorpos IgG anti <i>T. gondii</i> em ovinos	103
7- CONCLUSÕES.....	105
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
9- ANEXOS	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Avaliação da sensibilidade, especificidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA (IR \geq 1,00) utilizando como reação de referência RIFI (1:64) em 767 soros de caprinos das regiões Centro oeste sul do Estado de Minas Gerais, 2002.....	45
Tabela 2	Composição dos rebanhos caprinos de acordo com sexo, faixa etária e tipo racial de diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002.....	51
Tabela 3	Características das unidades produtoras de Caprinos do Estado de Minas Gerais, 2002, incluídas neste estudo.....	49
Tabela 4	Prevalência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA.....	56
Tabela 5	Prevalência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA de acordo com a idade, raça e sexo.....	56
Tabela 6	Determinação dos fatores de risco através da análise univariada para avaliação dos aspectos soropidemiológicos da toxoplasmose caprina.....	57
Tabela 7	Fatores de risco para Toxoplasmose caprina em diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002. MODELO 1.....	59
Tabela 8	Fatores de risco para Toxoplasmose caprina em diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002. MODELO 2.....	59
Tabela 9	Avaliação da sensibilidade, especificidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA utilizando como reação de referência RIFI (1:16) em 711 soros de ovinos das regiões Centro oeste sul do Estado de Minas Gerais.....	63
Tabela 10	Avaliação da sensibilidade, especificidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor	

	preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA utilizando como reação de referência RIFI (1:64) em 711 soros de ovinos das regiões Centro oeste sul do Estado de Minas Gerais.....	64
Tabela 11	Composição dos rebanhos ovinos de acordo com sexo, faixa etária e tipo racial de diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002.....	66
Tabela 12	Característica das unidades produtoras de Ovinos do Estado de Minas Gerais, 2002, incluídas neste estudo.....	70
Tabela 13	Prevalência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soros de ovinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA.....	71
Tabela 14	Prevalência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA de acordo com a idade, raça e sexo.....	72
Tabela 15	Distribuição das variáveis na análise univariada para avaliação dos aspectos soro-epidemiológicos da toxoplasmose ovina.....	75
Tabela 16	Fatores de risco para Toxoplasmose Ovina em diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002.....	76

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Mapa de Minas Gerais com suas Mesorregiões. Em amarelo as Mesorregiões incluídas neste estudo.....	29
Figura 2 Localização de municípios com propriedades de caprinos amostradas nas doze mesorregiões em Minas Gerais, 2002. Em amarelo a região centro oeste sul, analisada neste estudo.....	30
Figura 3 Localização de municípios com propriedades de ovinos amostradas nas doze mesorregiões em Minas Gerais, 2002. Em amarelo a região centro oeste sul, analisada neste estudo.....	30
Figura 4 Distribuição dos caprinos de acordo com a avidéz apresentada pelos anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> dos soros procedentes das diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais.....	61
Figura 5 Distribuição dos ovinos de acordo com a avidéz apresentada pelos anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> dos soros procedentes das diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais.....	78

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo soroepidemiológico da toxoplasmose caprina e ovina no Estado de Minas Gerais. Foram avaliados soros de 767 caprinos e 711 ovinos provenientes das regiões Centro, Oeste e Sul do Estado além de questionários com dados da propriedade e individuais de cada animal. O ELISA se mostrou sensível, específico e reprodutível no diagnóstico da toxoplasmose caprina e ovina. Para os caprinos, a prevalência encontrada foi de 43,0% e 46,0% através do ELISA e RIFI, respectivamente. Foi identificado uma maior prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em caprinos de raça pura. Não foi observada associação significativa entre a positividade para toxoplasmose e o sexo ou idade dos animais. Os fatores de risco para a infecção por *T. gondii* em caprinos foram: idade superior a 36 meses (OR= 1,21 IC 95% 1,02 – 1,44), presença de aprisco (OR= 1,83 IC 95% 1,01 – 3,31) e tipo racial puro (OR= 2,49 IC 95% 1,11 – 5,59). Para os ovinos, foi encontrada uma prevalência de 31,0% através do ELISA e 43,0% utilizando a RIFI. Foi observada diferença estatística na relação entre a prevalência da toxoplasmose e a faixa etária dos ovinos. Para as variáveis sexo e tipo racial não foram observadas associações. O único fator de risco encontrado para infecção por *T. gondii* em ovinos do Estado de Minas Gerais foi a idade. Animais com idade superior a 36 meses tiveram risco 1,45 maior de estarem infectados, quando comparados com os mais novos (IC 95% 1,20 – 1,74). Foi observado que 26,8% e 19,0% dos caprinos e ovinos, respectivamente, possuem anticorpos IgG para *T. gondii* de baixa avidéz. Este resultado sugere a presença de animais em fase recente da toxoplasmose nas regiões do Estado de Minas Gerais.

ABSTRACT

The objective of this work was to carry out a study of caprine and ovine toxoplasmosis in the State of Minas Gerais. In order to determine the prevalence of toxoplasmosis in goats and ovines from the Center, West, and South regions of Minas Gerais, 767 serum from goats and 711 serum from ovines were tested by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) using IFAT (Indirect fluorescence antibody test) as reference test. Questionnaires with data of the properties and each individual animal were applied. ELISA shows good sensitivity, specificity, reproducibility, and concordance. For goats, the prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* was 43.0% and 46.0% for ELISA and IFAT, respectively. An association between infection rate and pure race goats was identified. Significant association was not observed between toxoplasmosis and the sex or age of the animals. The risk factors for the infection for toxoplasmosis in goats were: age superior to 36 months (OR = 1.21 IC 95% 1.02 – 1.44), presence of fold (OR = 1.83 IC 95% 1.01 – 3.31) and pure racial type (OR = 2.49 IC 95% 1.11 – 5.59). For sheeps, a prevalence of 31.0% through ELISA and 43.0% through IFAT was found. Statistics differences were observed between the prevalence of toxoplasmosis and the age group of sheeps. For sex and race, significant associations were not observed. The risk factor found for infection by *T. gondii* in sheep was the age of the animals. Animals with age superior to 36 months had a 1.45 greater risk to be infected with *T. gondii* than younger ones (IC 95% 1.20 – 1.74). It was observed that 26.8% and 19.0% of the goats and sheeps, respectively, possess low avidity IgG to *T. gondii*. These results suggest the presence of animals in recent phase of toxoplasmosis in the Center, West, and South regions in the State of Minas Gerais.

1 - INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – BIOLOGIA E TRANSMISSÃO DO *Toxoplasma gondii*

O *Toxoplasma gondii* foi descrito simultaneamente no Brasil por Splendore, em coelho (*Oryctolagus cuniculus*) e no Norte da África por Nicolle & Manceaux em um roedor (*Ctenodactylus gondi*), em 1908. Este protozoário é um parasito intracelular obrigatório, de distribuição mundial, podendo ser encontrado em grande variedade de hospedeiros vertebrados (Dubey & Beattie, 1988; Dubey, 1998; Carruthers, 2002). O *T. gondii* pertence ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, Subclasse Coccidia, Ordem Eucoccidiida, Família Sarcocystidae e Subfamília Toxoplasmatinae (Levine *et al.*, 1980).

O ciclo do *T. gondii* é heteroxeno facultativo, sendo os hospedeiros definitivos membros da família Felidae e os hospedeiros intermediários provavelmente todos animais homeotérmicos, aves e mamíferos, entre os últimos caprinos, ovinos e humanos (Dubey & Beattie, 1988; Dubey, 1998; Tenter *et al.*, 2000). As duas principais formas envolvidas na transmissão do parasito são o cisto tecidual contendo bradizoítos, e o oocisto onde são encontrados os esporozoítos. No entanto, durante a primoinfecção de fêmeas, no período de gestação, taquizoítos do *T. gondii* pode ser transmitido ao feto pela via transplacentária (Tenter *et al.*, 2000).

O ciclo sexuado ocorre apenas no intestino de membros da família Felidae onde após uma série de esquizogonias acontece a diferenciação de gametas, fecundação e formação de oocisto. Os felídeos eliminam em suas fezes oocistos não esporulados que em condições

ambientais propícias de temperatura, umidade e oxigenação, se tornam infectantes. O oocisto esporulado contém dois esporocistos com quatro esporozoítos em cada um e a ingestão deste pode ocorrer através de água e alimentos contaminados (Aramini *et al.*, 1999). Uma outra forma de infecção por *T. gondii*, pela via oral, ocorre pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais. Após a ingestão dos cistos ou oocistos, a parede externa é rompida por degradação enzimática e as formas infectantes bradizoítos e esporozoítos, respectivamente, são liberadas no lume intestinal, onde rapidamente invadem as células do hospedeiro e se diferenciam em taquizoítos (estas formas são de multiplicação rápida), por divisão assexuada (Dubey, 1998; Gross *et al.*, 2004).

A propagação dos taquizoítos no hospedeiro ocorre pelo rompimento de células infectadas e a infecção é sistêmica. Embora o parasito seja intracelular, pode sobreviver por breves períodos nos líquidos intersticiais e exsudatos (Chiari, 1981), já tendo sido demonstrada a presença de taquizoítos na saliva, urina e no leite de cabra (Dubey *et al.*, 1980; Chiari & Neves, 1984; Vitor *et al.*, 1991). O período inicial da infecção caracteriza a fase aguda da doença onde os taquizoítos se multiplicam rapidamente por repetidas endodiogenias em diferentes tipos de células. Com o desenvolvimento da imunidade, a multiplicação dos taquizoítos é interrompida e ocorre a formação de cistos teciduais contendo bradizoítos, formas de multiplicação lenta, o que caracteriza a fase crônica da infecção (Filisetti & Candolfi, 2004; Gross *et al.*, 2004). Estes cistos teciduais se localizam predominantemente no sistema nervoso central, retina e na musculatura esquelética e cardíaca (Tenter *et al.*, 2000).

A ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais é o principal mecanismo de infecção para animais carnívoros e onívoros enquanto a ingestão de oocistos é o principal mecanismo de infecção para herbívoros (Vitor, 1992).

A transmissão transplacentária, por taquizoítos, tem sido responsabilizada pela ocorrência de abortos, natimortos, debilidade e mortalidade neonatal, tanto no homem como em outros animais, sendo essa uma das principais causas de perdas em rebanhos caprinos e ovinos (Dubey *et al.*, 1980; Dubey & Beattie, 1988; Freyre *et al.*, 1999; Duncanson *et al.*, 2001; Weissmann, 2003). Em todos os casos os danos são mais graves quando a infecção ocorre no dois primeiros trimestres da gestação (Duncanson *et al.*, 2001; Hill & Dubey, 2002; Szeredi e Bacsadi, 2002; Masala *et al.*, 2003).

A infecção por *T. gondii* é geralmente assintomática, entretanto a toxoplasmose é mais grave nos casos de transmissão congênita e em indivíduos imunodeficientes. Atualmente esta parasitose é considerada re-emergente, pois tem sido relatada como séria infecção oportunista, associada a AIDS, sendo que 25% dos indivíduos que apresentam co-infecção desenvolvem toxoplasmose encefálica (Tenter *et al.*, 2000; Bhopale, 2003; Gross *et al.*, 2004).

Portanto em humanos, o *T. gondii* pode ser transmitido principalmente pela ingestão de oocistos esporulados em água e verduras mal lavadas ou ingestão de carnes cruas ou mal cozidas contendo cistos com bradizoítos. Desta forma, as fontes de infecção variam em diferentes populações com diferentes culturas e hábitos alimentares (Dubey, 1996; Tenter *et al.*, 2000). A infecção pode ocorrer ainda por outros mecanismos de transmissão como

transplantes de órgãos, acidentes laboratoriais e ingestão de leite cru (Tenter *et al.*, 2000; Hill & Dubey, 2002).

1.2 - OCORRÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM CAPRINO E OVINOS UTILIZADOS PARA CONSUMO HUMANO

Entre os hospedeiros domésticos, os herbívoros assumem a maior importância na cadeia epidemiológica pela possibilidade da contaminação natural do solo e das pastagens com milhares de oocistos eliminados por Felídeos (Chiari, 1981).

Alguns animais como bovinos e eqüinos são susceptíveis à infecção, mas resistentes à doença induzida pelo *T. gondii*, diferentemente do que ocorre em pequenos ruminantes (Esteban-Redondo & Innes, 1997; Gazêta *et al.*, 1997).

Em pequenos ruminantes, a toxoplasmose é importante não só pelo que representa em perdas reprodutivas e econômicas, mas também por sua implicação e importância na saúde pública, já que o consumo de carne e leite infectados pode facilitar a transmissão zoonótica (Garcia-Vazquez *et al.*, 1993; Rodríguez-Ponce *et al.*, 1995; Bisson *et al.*, 2000; Jittapalpong *et al.*, 2005). Já foi demonstrada estreita relação entre a prevalência da infecção nos rebanhos e a ocorrência de casos isolados ou de surtos de toxoplasmose humana (Chiari, 1981; Serra-Freire *et al.*, 1994; Gazêta *et al.*, 1997). A toxoplasmose animal já foi considerada um fator limitante para o uso de todo o potencial alimentar dos rebanhos, principalmente em países onde a criação de animais de pequeno porte é realizada em regime semi-intensivo (Chiari, 1981).

A infecção por *T. gondii* é muito comum em caprinos e ovinos de todo o mundo e é reconhecida como uma das maiores causas de perdas reprodutivas na Grã Bretanha, Nova Zelândia, Austrália, EUA, Uruguai e outros países (Dubey *et al.* 1980; Dubey & Beattie, 1988; Bari *et al.*, 1993; Freyre *et al.*, 1999; Pereira-Bueno *et al.*, 2004). A principal repercussão clínica e econômica da toxoplasmose caprina e ovina é o aborto, que independente da idade das matrizes, sendo mais freqüente nas fêmeas que adquiriram a infecção durante a gestação, podendo ocorrer ainda, em gestação subsequente. A toxoplasmose nestes pequenos ruminantes ocasiona perdas através de esterilidade, aborto, natimorto, nascimento de crias fracas e mortalidade, contudo a presença de anticorpos anti-*T. gondii* sem associação com problemas clínicos é achado comum (Dubey *et al.*, 1980; Bahia, 1993; Machado & Lima, 1987).

1.3 - DIAGNÓSTICO DE TOXOPLASMOSE OVINA E CAPRINA

A utilização de testes sorológicos para a demonstração de anticorpos anti-*T. gondii* é de grande importância no diagnóstico da toxoplasmose caprina e ovina, frente às limitações encontradas nos diagnósticos parasitológico, molecular e clínico, dificultados pela quase totalidade de formas assintomáticas (Chiari *et al.*, 1986; Bahia, 1993). Além disso, quando sintomática, a toxoplasmose poder assumir quadros clínicos facilmente confundidos com grande variedade de enfermidades, dificultando a tomada de medidas específicas de controle e tratamento (Vidotto, 1992).

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose animal tem sido realizado pela presença de anticorpos principalmente da classe IgG utilizando uma variedade de reações sorológicas,

entre as quais a de Sabin-Feldman ou teste do corante (Garcia-Vazquez *et al.*, 1993; Hejlícek & Literak, 1994), a hemaglutinação indireta (HAI) (Hashemi-Fesharki, 1996; Langoni *et al.*, 1999; Gorman *et al.*, 1999; Vitor *et al.*, 1999), a imunofluorescência indireta (RIFI) (Mainardi *et al.*, 2003; Figliuolo *et al.*, 2004; Uzêda *et al.*, 2004), a aglutinação do látex (LAT) (Hashemi-Fesharki, 1996; Pita Gondim *et al.*, 1999; Jittapalapong *et al.*, 2005), o método da aglutinação direta (MAD) (Silva *et al.*, 2002), o teste de aglutinação modificado (MAT) (Klun *et al.*, 2005) e a reação imunoenzimática - ELISA (Skjerve *et al.*, 1998; Cavalcante, 2004; Sawadogo *et al.*, 2005) e dot-ELISA (Bahia *et al.*, 1993).

Recentemente, técnicas moleculares, além da sorologia, foram utilizadas para a realização do diagnóstico de toxoplasmose ovina e caprina. Masala *et al.* (2003), entre os anos de 1999 a 2002, analisaram 9639 amostras de soros pela RIFI e 815 amostras biológicas obtidas de fetos abortados pela Reação em cadeia da polimerase (PCR), procedentes de ovinos e caprinos localizadas em Sardenha na Itália. Os autores demonstraram pela associação dos testes a prevalência de *T. gondii* em ovinos e caprinos é relativamente alta além dos resultados da grande importância da toxoplasmose nos casos de aborto nessas espécies.

Recentemente, Pereira-Bueno *et al.* (2004) analisaram a evolução de abortos em ovinos associados com a infecção por *T. gondii* por diferentes técnicas de diagnóstico. Estes autores estudaram 173 fetos abortados, provenientes de diferentes localidades do centro e norte da Espanha. Além da sorologia (ELISA e RIFI) utilizaram também a histopatologia e ferramentas de biologia molecular (nested-PCR) para esta análise. A porcentagem de fetos diagnosticados por técnicas sorológicas (28,3%) foi maior comparado com as outras

técnicas, sendo 8,7% diagnosticados pelo exame histológico e 6,9% através da técnica de PCR.

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose caprina e ovina não está bem delineado quanto da toxoplasmose humana onde a infecção por *T. gondii* pode ser diagnosticada pela presença de IgM e IgA durante os primeiros meses (fase aguda) e pela presença de IgG, imunoglobulina predominante durante o segundo mês da infecção (fase crônica).

Outro marcador sorológico capaz de distinguir entre infecções agudas e infecções crônicas, diz respeito à avidéz dos anticorpos IgG específicos (Bahia *et al.*, 1995; Conde *et al.*, 2001). Em infecções recentes, uma alta porcentagem destes anticorpos apresenta baixa avidéz, e ao longo de semanas ou meses, esses anticorpos vão apresentando avidéz crescente, de modo que, nas infecções de mais longa duração, encontra-se um predomínio marcante de anticorpos de grande afinidade. Bahia *et al.* (1995) avaliaram a avidéz de anticorpos IgG como marcador sorológico de infecção recente e crônica de caprinos pelo *T. gondii* através da dissociação do complexo antígeno-anticorpo (Ag – Ac), com uréia. Sager *et al.*, (2003) e Gross *et al.* (2004) também associam a presença de anticorpos anti IgG de alta avidéz a infecções tardias.

1.4- TOXOPLASMOSE EM CAPRINOS

O *T. gondii* é encontrado com frequência parasitando caprinos em todo o mundo, sendo o primeiro relato realizado nos Estados Unidos por Feldman & Miller (1956). Neste trabalho os autores verificaram através de inquéritos sorológicos, a prevalência de 43% de

anticorpos anti - *T. gondii* em dois grupos de caprinos na área central de Nova Iorque (EUA).

Sharma & Gautan (1972) *apud* Chiari *et al.* (1987) chamaram a atenção para o fato de que a ingestão de carne ou leite contaminados com *Toxoplasma* podia ser uma das formas de infecção para o homem, principalmente em locais como a Índia, onde a cabra representa a maior fonte de alimento protéico.

De acordo com Tenter *et al.* (2000), a soroprevalência da toxoplasmose caprina no período de 1990 a 1999 era bastante variável, oscilando de 0% no Paquistão a 77% na França. Posteriormente, estudos realizados por Bisson *et al.* (2002) em Uganda demonstraram pelo ELISA, 30,6% de positivos entre 784 caprinos provenientes de diferentes regiões de Uganda incluindo áreas urbanas e rurais. Em Gana, Van der Puije *et al.* (2002) utilizaram a mesma técnica em 526 soros de caprinos amostrados de 28 locais sendo a prevalência encontrada de 26,8%. Mais recentemente, Masala *et al.* (2003), em Sardenha (Itália), encontraram respectivamente as prevalências de 12,3% e 5,6% para anticorpos anti-IgG e anti-IgM em caprinos. Jittapalapong *et al.* (2005) estudaram a soroprevalência da infecção de *T. gondii* em cabras domésticas provenientes do sul da Tailândia. Foi utilizado o LAT, e a prevalência encontrada foi de 27,9%. A idade, o sexo e o tipo de produção animal foram variáveis apontadas, neste estudo, como fatores de risco para a toxoplasmose.

No Brasil, as taxas de infecção apontadas para rebanhos caprinos são também variáveis, e esta variabilidade se deve principalmente, ao teste sorológico utilizados, à região e a idade dos animais estudados (Dubey, 1990; Silva *et al.*, 2003).

O primeiro trabalho relatando a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de caprinos realizado no Brasil foi publicado por Amaral *et al.* (1978). Foram testados pela HAI 100 soros provenientes de animais do Estado da Bahia onde 10% apresentaram resultado positivo. Através da mesma técnica, Araújo *et al.* (1984) examinaram 118 caprinos de ambos os sexos da região de Porto Alegre (Rio Grande do sul) e encontraram 16,1% de positividade.

Machado e Lima (1987) determinaram a freqüência de caprinos reagentes ao *T. gondii* pela RIFI em 372 amostras de soros provenientes de 46 propriedades de 14 municípios de Minas Gerais. A freqüência encontrada foi de 36,8%, com taxa de 36,1% entre rebanhos leiteiros, 11,4% nos animais de corte e 62,9% em rebanhos de exploração mercantil simples, destinados à alimentação e renda alternativa da família. A partir destes resultados os autores concluíram que a freqüência da toxoplasmose estaria associada à forma de exploração dos animais, e que existeria associação entre níveis de anticorpos e freqüência de títulos positivos. Neste estudo foram consideradas positivas as reações com títulos iguais ou maiores a 1:16.

Neste mesmo ano, também no estado de Minas Gerais, Chiari *et al.* (1987) realizaram um levantamento soroepidemiológico na região metropolitana de Belo Horizonte e no município de Pedra Azul, onde também estabeleceram uma relação entre técnica de manejo utilizada e títulos positivos. Utilizando a RIFI, os animais puderam ser agrupados em três lotes que apresentaram prevalência de 92,4% (área peri-urbana de Belo Horizonte), 70% (área urbana de Pedra Azul) e 32% (área rural de Pedra Azul).

Estudos realizados nas áreas rural e urbana do Estado do Rio de Janeiro, através da RIFI, mostraram uma prevalência de 15,84% para toxoplasmose caprina. O percentual de animais positivos foi de zero e 27,59% nas áreas rural e urbana, respectivamente (Serra-Freire *et al.*, 1994). No mesmo ano, Sella *et al.*(1994) examinaram 153 caprinos leiteiros de oito propriedades localizadas em Londrina (Paraná). O método utilizado por estes autores foi a RIFI, sendo a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* encontrada de 30,7%.

Alves *et al.* (1997) testaram 631 amostras de soros caprinos provenientes de diferentes micro-regiões da Paraíba onde pela RIFI, verificaram uma variação na frequência de anticorpos anti-*T. gondii* oscilando de zero a 26,8%.

Na Bahia, Pita-Gondim *et al.* (1999) encontraram prevalência de 28,93% para a toxoplasmose caprina. Estes autores, utilizando o LAT, testaram soros de 439 caprinos procedentes de duas regiões de características climáticas distintas. O Recôncavo, região mais úmida e quente, apresentou maior índice de positividade quando comparado com a Caatinga (região de clima quente e seco).

Figueiredo *et al.* (2001) examinaram 160 amostras de soros caprinos provenientes de Uberlândia, Minas Gerais. As técnicas utilizadas neste trabalho foram RIFI e HAI sendo que a frequência encontrada por cada teste foi 11,9% e 10%, respectivamente.

Silva *et al.* (2003) com objetivo de comparar as variáveis epidemiológicas na toxoplasmose em caprinos testaram, pela RIFI, 213 soros de animais de propriedades localizadas em duas

regiões de Pernambuco. A prevalência encontrada foi de 40,4% e segundo os autores poderia estar associada ao sexo, a raça, à região, ao tipo de manejo e de exploração.

Em São Paulo, Mainardi *et al.* (2003) e Figliuolo *et al.* (2004) observaram taxas de positividade de 14,5% e 28,7%, respectivamente. Ambos os grupos utilizaram a RIFI como técnica sorológica sendo a diferença entre as prevalências encontradas foram atribuídas à origem e manejo dos animais ou ainda, diferença do título considerado no critério de positividade.

Recentemente, Cavalcante (2004) observou respectivamente, através da RIFI e ELISA, que 25,1% e 25,7% dos caprinos do Ceará, eram positivos para a infecção por *T. gondii*. A maior prevalência para toxoplasmose estava associada ao número de gatos presente nas propriedades, aos tipos de bebedouro e comedouro utilizados pelos animais e a idade maior ou igual a 36 meses.

Na Bahia, Uzêda *et al.* (2004), utilizando a RIFI encontraram prevalência de 16,35% em nove rebanhos de caprinos leiteiros do Estado. Soros de 373 animais de diferentes idades, raças e categorias zootécnicas foram analisados utilizando a diluição de 1:16 como critério de positividade. As fêmeas tiveram maior porcentagem de positividade. Os autores não encontraram predisposição racial ou etária em relação a soroprevalência.

1.5- TOXOPLASMOSE EM OVINOS

O primeiro relato de toxoplasmose ovina, realizado por Olafson & Monlux, ocorreu em 1942 nos Estados Unidos. Estes pesquisadores além de descreverem as lesões e os sinais clínicos da doença encontraram também as formas típicas do parasito em uma ovelha adulta que havia apresentado sintomas nervosos, quatorze dias antes de morrer. Em 1950, na Austrália ocorreu um segundo relato realizado por Wickham & Carne os quais descreveram a presença de parasitos em lesões cerebrais (*apud* Amaral *et al.*, 1978).

Mesmo com esses relatos, somente a partir de 1954 que o *T. gondii* foi reconhecido como agente etiológico de abortos na espécie ovina e é considerado atualmente, a maior causa de problemas reprodutivos desta espécie (Silva *et al.*, 2003).

Vários aspectos relativos à toxoplasmose ovina já foram publicados, entre eles os fatores de risco para a presença de anticorpos anti-toxoplasma (Skjerve *et al.*, 1998), casos de toxoplasmose e a evoluções de abortos (Szeredi & Bacsadi, 2002; Pereira-Bueno *et al.*, 2004), transmissão congênita (Duncanson *et al.*, 2001), diagnósticos para abortos (Archer *et al.* 1971a;b) e os prejuízos causados por esta infecção nos rebanhos (Freyre *et al.*, 1999).

A toxoplasmose em ovinos tem sido assinalada em diversos países. Foi revista por Tenter *et al.* (2000). Estes autores mostram que a frequência de reações positivas nesses animais é bastante variável, oscilando de 3% no Paquistão e Zimbábwe a 92% na França.

As variações observadas na soroprevalência da toxoplasmose ovina podem estar relacionadas a vários fatores epidemiológicos, regionais, às aspectos nutricionais, à idade, o sexo, o manejo e aos testes sorológicos aplicados na sua determinação (Tenter *et al.*, 2000).

O ELISA foi o teste sorológico escolhido por Van der Puije *et al.* (2000) para avaliar a prevalência de toxoplasmose ovina em 28 regiões diferentes de três zonas ecológicas de Ghana. Neste estudo, dos 732 animais estudados, 33,2% apresentaram reação positiva. Os autores discutem a importância do clima e umidade ambiental como fatores que influenciam para maior viabilidade dos oocistos. As maiores taxas de prevalência foram encontradas em regiões de florestas, e as menores nas regiões de Savana onde o clima é seco e pouco propício para a esporulação dos oocistos.

Na Síria, El-Moukdad (2002) estudou a toxoplasmose ovina em várias províncias da região, encontrando soroprevalência total de 44,56% sendo que as taxas foram variáveis entre as províncias foi variável de 13,8% a 74,5%.

Masala *et al.* (2003), demonstraram anticorpos anti-IgG em 28,4% e anticorpos anti-IgM em 9% de 9639 ovinos estudados em Sardenha (Itália) pela RIFI. Estes autores indicam o aborto como uma importante sintomatologia da toxoplasmose nesses ruminantes nesta região.

Estudos recentes realizados na Sérvia utilizando o teste de aglutinação modificado demonstraram alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nos ovinos desta região. Aproximadamente 84,5% dos 511 animais estudados tiveram resultados positivos sendo

que 10% destes se encontravam provavelmente na fase aguda da infecção. Neste estudo, também foram identificados, através de análises univariadas e multivariadas, alguns fatores de riscos relacionados à toxoplasmose (Klun *et al.*, 2005).

Sawadogo *et al.* (2005) analisaram pelo ELISA soros de 261 animais de abate em Marrakech, Marrocos. Destes, 72 soros (27,6%) foram considerados positivos na pesquisa de anticorpos IgG anti- *T. gondii*.

No Brasil, são poucos os estudos sobre a prevalência de anticorpos anti- *T. gondii* em ovinos. Amaral *et al.* (1978) realizaram um estudo sobre a prevalência de toxoplasmose em ovinos procedentes do Rio Grande do Sul. Estes pesquisadores examinaram 100 soros pela HAI e relatam 23 positivos com títulos iguais ou superiores a 1:64. Destes 23 ovinos reagentes, 47,83% apresentaram títulos de anticorpos iguais a 1:64, 21,74% iguais a 1:256, 13,04% iguais a 1:1024 e 17,39% iguais a 4096. Também neste Estado, em 1980, Larsson *et al.* encontraram a prevalência de 39,0%.

Pita-Gondim *et al.* (1999) em estudos na Bahia utilizando o LAT encontraram a soroprevalência de 18,75% em 240 ovelhas. No mesmo ano, Langoni *et al.* (1999) estudando 352 amostras de soros ovinos de 18 propriedades do Estado de São Paulo pela RIFI e HAI relataram 30,4% de positividade pelo HAI e 55,1% pela RIFI.

Estudo soroepidemiológico também foi realizado no Estado de Pernambuco por Silva *et al.* (2003). De 173 amostras de soros provenientes de ovinos de duas regiões, foram

encontrados 35,3% sororeativos pela RIFI. Neste trabalho foram encontradas associações significativas para raça e sexo, mas não para região, tipo de manejo ou falha reprodutiva.

Recentemente em São Paulo, Figliuolo et al. (2004) analisaram 597 ovinos encontrando uma taxa de positividade de 34,7% para a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. Esses autores utilizaram a RIFI na diluição 1:64 como critério de positividade, encontraram associação entre a idade dos animais e a presença de anticorpos anti- *T. gondii*.

1.6 - PEQUENOS RUMINANTES – SITUAÇÃO MUNDIAL E DO BRASIL

Até aproximadamente o ano de 1996, ovinos e caprinos ocupavam no mundo, o segundo e quarto lugar, respectivamente, entre os animais usados para consumo humano. As criações de caprinos estão localizadas, em grande maioria, nos países em desenvolvimento como a Índia, a China e o Paquistão que juntos, concentram 42% do rebanho mundial. Os rebanhos caprinos estão mais concentrados em áreas secas tropicais e subtropicais, com terras pobres, pouco voltadas à agricultura (Morand-Fehr & Boyazoglu, 1999; Embrapa-Caprinos, 2000).

Os rebanhos ovinos, por sua vez, são relativamente bem representados em países desenvolvidos, com animais mantidos sob regime extensivo em grandes áreas de pastagens cultivadas. Países como a Austrália, Nova Zelândia, China, África do Sul e Argentina, concentram a maioria dos rebanhos ovinos, onde a criação de bovinos, aves e caprinos é menor. A maior parte do rebanho ovino localiza-se em áreas temperadas, onde o principal produto utilizado é a lã, seguida da carne, leite e pele. Nos trópicos, os ovinos são geralmente deslanados, utilizados economicamente para a produção de carne e pele, com os

maiores contingentes na África, destacando-se os rebanhos da Etiópia, Sudão, Somália e Nigéria (Oliveira & Lima, 1994).

A ovinocaprinocultura é uma atividade explorada em todos os continentes, entretanto, somente em alguns países apresenta expressividade econômica, sendo na maioria dos casos, desenvolvida de forma extensiva, com pouca utilização de tecnologia (Embrapa – Caprinos, 2000).

O Brasil, embora apresentando uma dimensão territorial e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da ovinocaprinocultura, quando comparado à criação de bovinos (150 milhões de cabeças), possui um rebanho ovino e caprino pequeno, da ordem de 32 milhões de cabeças, o equivalente a 3,3% do efetivo mundial que é superior a 990 milhões de cabeças (Embrapa – Caprinos, 2000). Porém, de acordo com o último censo agropecuário realizado (IBGE, 2003), o número de pequenos ruminantes tem aumentado significativamente, principalmente nas regiões sudeste e nordeste do Brasil.

A introdução de caprinos e ovinos no Brasil, data de 1535, pelos colonizadores portugueses, que aportaram no Nordeste (Maia *et al.*, 1997). Do efetivo nacional, os caprinos estão assim distribuídos: 1,4% na Região Norte, 93% no Nordeste, 2,4% no Sudeste, 1,9% no Sul e 1% no Centro-Oeste. Do rebanho ovino, 2,8% encontra-se na Região Norte, 49% no Nordeste, 2,8% no Sudeste, 40% no Sul e 4,9% no Centro-Oeste.

O Nordeste brasileiro destaca-se pelo desenvolvimento da produção de caprinos, abriga o maior rebanho nacional principalmente os Estados da Bahia, Pernambuco e Piauí (IBGE, 2003). Esta região detém grande parte do rebanho nacional de pequenos ruminantes sendo estes explorados de forma extensiva. O contingente populacional dos caprinos vem aumentando em função da rusticidade e adaptação ao meio ambiente em que predomina vegetação de caatinga. Introduzidos pelos colonizadores, os ovinos e caprinos adaptaram-se às condições adversas de hábitat, possibilitando o surgimento de algumas raças locais, as quais, em seu processo de formação, adquiriram características de rusticidade, embora tenha ocorrido perda em produtividade (Embrapa-Caprinos, 2000).

A região Nordeste apresenta também o principal rebanho de ovinos. Apesar disto as principais cidades produtoras estão no sul do país, especificamente no Estado do Rio Grande do Sul, nos municípios de Santana do Livramento, Alegrete, Uruguaiana e Quaraí. (IBGE, 2003).

Os rebanhos ovinos das regiões Sul e Nordeste apresentam diferenças, sob os aspectos raciais e sistemas de exploração utilizados. No Rio Grande do Sul, os ovinos são destinados principalmente à produção de lã, embora com tendência a mudança pela maior valorização da carne. No nordeste, o rebanho ovino é constituído principalmente por animais deslanados, destinados à produção de carne e pele.

O sistema predominante de produção de ovinos e caprinos para corte é o extensivo, dependente da vegetação de caatinga e caracterizado pela utilização de animais com

genótipos não especializados. Este sistema está quase sempre associado a cultivos de subsistência, com índices de desempenho baixos associados à alta mortalidade de animais e a idade tardia para atingir o peso de abate (Guimarães-Filho *et al.*, 2000).

Em Minas Gerais, sob o ponto de vista econômico, a exploração de caprinos e ovinos de corte é encontrada principalmente nas regiões norte e nordeste, onde foram verificadas tendências semelhantes a caprinocultura nordestina. Os animais são criados em pastoreio extensivo durante o dia e alguma proteção do ambiente natural durante a noite, de forma consorciada (principalmente caprinos com ovinos), para produção de pele e carne. Nas regiões central, oeste e sul, há maior concentração de rebanhos leiteiros, e a situação dos rebanhos de corte é desconhecida, provavelmente tendendo a aumentar, devido ao mercado consumidor de carne do estado de São Paulo (Gouveia, 2001). O Estado de Minas Gerais contabiliza 61.414 e 125.226 cabeças de caprinos e ovinos, respectivamente, entretanto, dados mais recentes elevam estes números para 116.580 e 174.193 cabeças (IBGE, 2004).

Nas regiões Norte e Nordeste de Minas Gerais, as terras são menos valorizadas e a produção de carne e pele de caprinos e de ovinos apresenta-se lucrativa, mesmo com baixos índices de produtividade do rebanho, devido aos custos mínimos de investimento (Instituto Mineiro de Agropecuária - IMA, 1998). Nas outras regiões do Estado, principalmente no sul, centro, zona da mata, zona metalúrgica e triângulo mineiro, a caprinocultura é direcionada para a produção de leite, adotando um sistema mais tecnificado de criação (Magalhães *et al.*, 1985; IMA, 1998).

O consorciamento das espécies caprina e ovina, para corte é freqüente. Nos Estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Bahia, mais de 50% dos produtores criam estes animais em consórcio, entretanto há grande variação do número de animais de cada espécie por propriedade.

Nas regiões litorâneas da Zona da Mata e Agreste da região nordeste do Brasil e nas regiões sul e sudeste, os sistemas de produção são semi-intensivos ou intensivos. Nos sistemas semi-intensivos, os animais são criados em áreas cercadas, com fornecimento de alguns cuidados como suplementação alimentar, melhoramento genético, controle de lotação e sanitário, e os animais utilizados são mestiços de raças nativas e exóticas. Nos sistemas intensivos, os animais são confinados e alimentados com forragem verde picada, ração concentrada e/ou subprodutos da indústria e agricultura; neste sistema, o principal objetivo é a produção de leite (Figueiredo, 1990).

Os principais produtos oriundos da ovinocaprinocultura são a carne, pele, leite e seus derivados. Apesar de crescimento da demanda nos últimos anos, a carne ainda apresenta baixo consumo no Brasil. As peles de ovinos deslanados e caprinos criados no nordeste são consideradas as melhores do mundo, podendo alcançar preços compensadores quando bem tratadas (Embrapa-Caprinos, 2000). Em Minas Gerais a produção de carne e peles é encontrada principalmente no norte e nordeste do Estado, onde se adota o sistema extensivo ou semi-extensivo de manejo (Gouveia, 2001; Yorinori, 2001). Nas outras regiões do centro, oeste e sul do Estado, a caprinovinocultura é mais voltada à produção de leite, com o sistema de criação semi-intensivo ou intensivo, sendo que este regime de criação reflete o nível sociocultural dos criadores (Magalhães *et al.*, 1985; IMA, 1998).

Estudo realizado por Pinheiro *et al.* (2000) em rebanhos caprinos cearenses, demonstrou alta taxa de mortalidade, principalmente entre animais jovens, comprometendo o desenvolvimento da atividade, em função do manejo sanitário inadequado. O baixo índice de utilização das práticas de manejo sanitário por parte dos criatórios caprinos e ovinos contribui muito para a manutenção dos altos índices de mortalidade e morbidade.

Guimarães (2006) estudou a caprinovinocultura em Minas Gerais encontrando 6,8% e 1,7% das propriedades que possuíam caprinos e ovinos respectivamente, com alto nível tecnológico. Entre as variáveis estudadas, foi observada alta frequência de abortamento, em 49,7% das propriedades que possuíam caprinos e em 23,9% daquelas onde a criação era de ovinos.

2 - JUSTIFICATIVA

2 – JUSTIFICATIVA

A Embrapa *Caprinos*, com o apoio da EMATERCE, e com o Instituto de Ciências Biológicas e a Escola de Veterinária da UFMG – GEPOC (Grupo de Extensão e Pesquisas em Ovinos e Caprinos), a partir de 1997, iniciou o projeto “*Caracterização Sanitária e dos Sistemas de Produção de Ovinos e Caprinos nos Estados do Ceará, Minas Gerais e Rio Grande do Sul*”, visando o cadastramento de produtores e caracterização zoonosológica dos sistemas de produção. Esses sistemas são modelos para determinar linhas de pesquisa e extensão que atendam diretamente a demanda dos produtores, de acordo com a relevância encontrada nestes estados, como representativos da situação nacional.

O projeto teve início no estado do Rio Grande do Sul seguido do Ceará, em função da disponibilidade, na época, de recursos financeiros regionais. Em Minas Gerais, optou-se primeiramente pela realização dos exames sorológicos voltados para as enfermidades causados por *Brucella abortus*, Lentivírus de Pequenos Ruminantes (CAE/artrite encefalite caprina ou *Maedi-Visna* em ovinos) e Língua Azul. Em função da alta taxa de abortos (próximas a 50%) encontrada no Ceará, foram incluídos neste estudo, exames adicionais voltados a agentes infecciosos, freqüentemente envolvidos com esta intercorrência em caprinos e ovinos. Dessa forma a realização de estudos sobre Toxoplasmose caprina e ovina, em Minas Gerais é uma continuidade ao ciclo de estudos iniciados pela Embrapa *Caprinos* – UFMG.

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, onde pequenos ruminantes assumem um importante papel na cadeia epidemiológica desta doença. A infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos e ovinos implica em problemas na saúde pública uma vez que o consumo de carne e leite contaminados pode facilitar a transmissão zoonótica deste protozoário.

Em caprinos e ovinos, a toxoplasmose resulta ainda, em perdas reprodutivas e econômicas dos rebanhos. A principal repercussão econômica da toxoplasmose para estes pequenos ruminantes é o aborto, que pode ocorrer em matrizes de todas as idades, podendo repetir na gestação subsequente. Embora seja grande número de perdas nos rebanhos mineiros por abortos e natimortos, as causas não estão bem esclarecidas.

Um estudo epidemiológico comparativo sobre a toxoplasmose ovina e caprina em diferentes regiões de Minas Gerais é bastante relevante considerando a carência de dados referentes a caprinovinocultura no Estado e a importância econômica destes pequenos ruminantes pela alta adaptação às condições físicas e climáticas locais. O conhecimento do perfil epidemiológico da infecção pelo *T. gondii* nestes animais poderá contribuir para o entendimento da alta taxa de mortalidade e baixa produtividade nos rebanhos, além da quantificação da prevalência dessa enfermidade nas áreas produtoras. Importante também é a possibilidade de correlacionar estes dados com os diferentes níveis tecnológicos dos criatórios para determinar os fatores de risco para a infecção.

3 – OBJETIVOS

3 - OBJETIVO GERAL

- Realizar estudo soroepidemiológico da toxoplasmose caprina e ovina nas regiões Centro Oeste e Sul do Estado de Minas Gerais

3.1 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a sensibilidade relativa, a especificidade relativa e a concordância (índice Kappa) do ELISA-IgG em relação a RIFI-IgG no diagnóstico da toxoplasmose caprina e ovina.
- Determinar a soro prevalência da toxoplasmose caprina e ovina em diferentes mesorregiões de Minas Gerais.
- Identificar fatores de risco relacionados à infecção de caprinos e ovinos pelo *T. gondii* no Estado de Minas Gerais.
- Determinar a avidéz de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* em soro de caprinos e ovinos correlacionando com as variáveis individuais dos animais avaliados

4 – MATERIAL E MÉTODOS

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - MARCO AMOSTRAL

O Estado de Minas Gerais está localizado na região Sudeste do Brasil sendo sua área territorial de 588.383,6 km². O clima é caracterizado predominantemente como tropical ou tropical de altitude, com temperaturas médias anuais abaixo de 20°C. Os índices de pluviosidade no Estado variam, em média, entre 1000 e 2000mm anuais, sendo bastante definidas as estações de seca e de chuvas. Minas Gerais compreende 12 mesorregiões: Jequitinhonha, Norte de Minas, Vale do Mucuri, Campo das Vertentes, Central Mineira, Metropolitana de Belo Horizonte, Noroeste de Minas, Oeste de Minas, Sul/ Sudoeste de Minas, Triângulo/ Alto Paranaíba, Vale do Rio Doce e Zona da Mata (Fig. 1).

Os animais analisados neste estudo são provenientes de oito mesorregiões do Estado, abrangendo as Regiões Centro-Oeste-Sul de Minas Gerais - Campo das Vertentes, Central Mineira, Metropolitana de Belo Horizonte, Oeste de Minas, Sul/ Sudoeste de Minas, Triângulo/ Alto Paranaíba, Vale do Rio Doce e Zona da Mata - (Figs. 2 e 3). Nesta área do estudo estão localizadas as Delegacias Regionais (DR's) e Escritórios Seccionais (ESEC's) do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) cujos veterinários procederam a coleta de sangue e aplicação dos questionários em 2002.

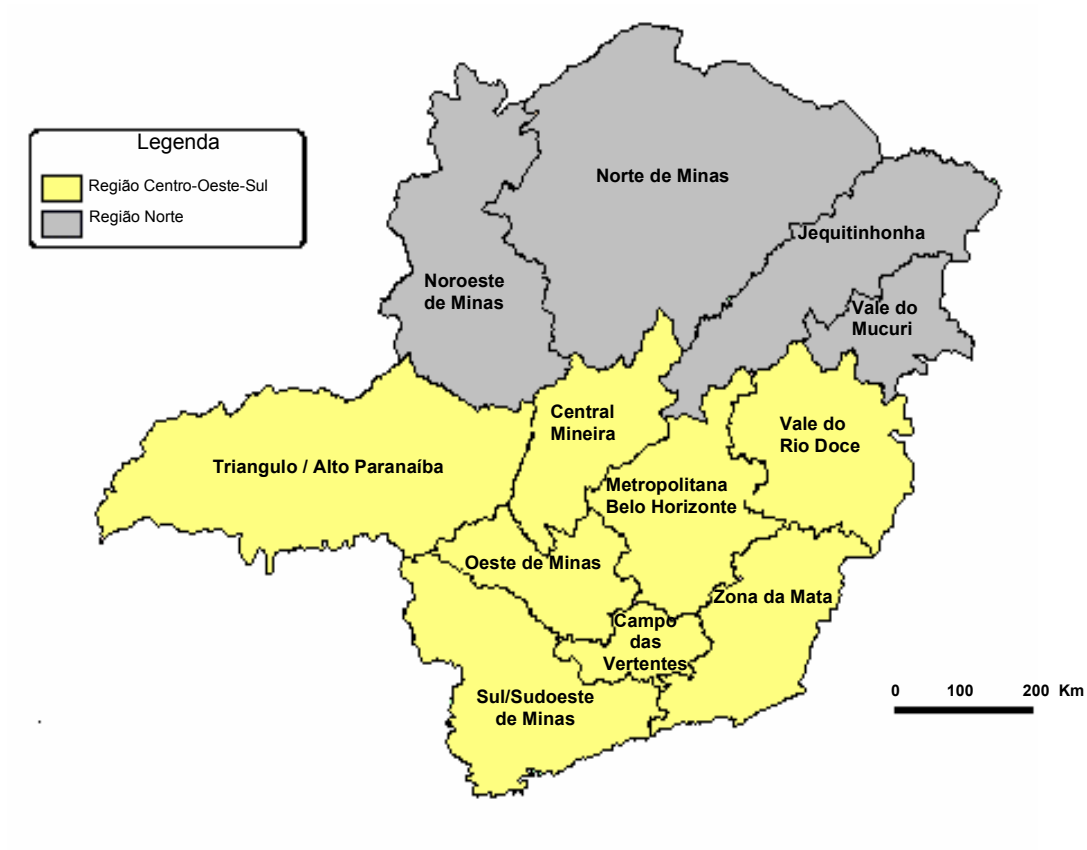


Figura 1. Mapa de Minas Gerais com suas Mesorregiões.

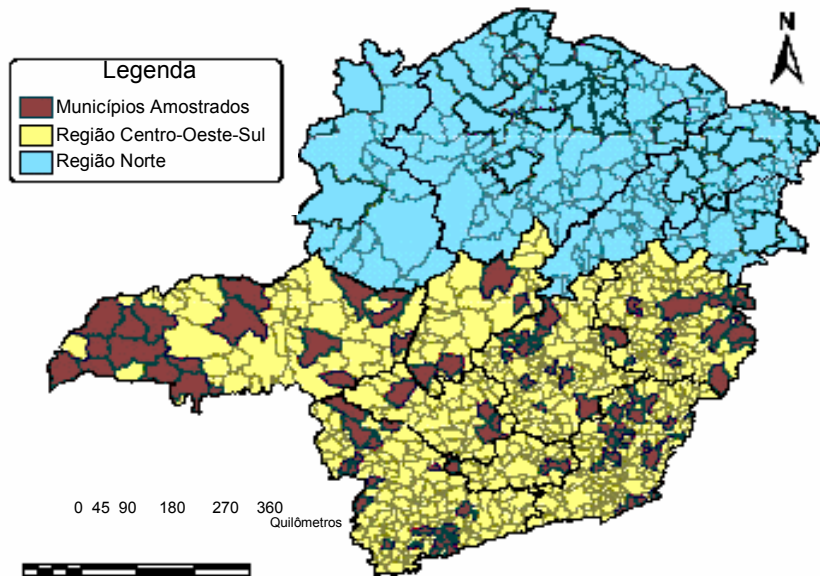


Figura 2. Localização de municípios com propriedades de caprinos amostradas nas doze mesorregiões em Minas Gerais, 2002

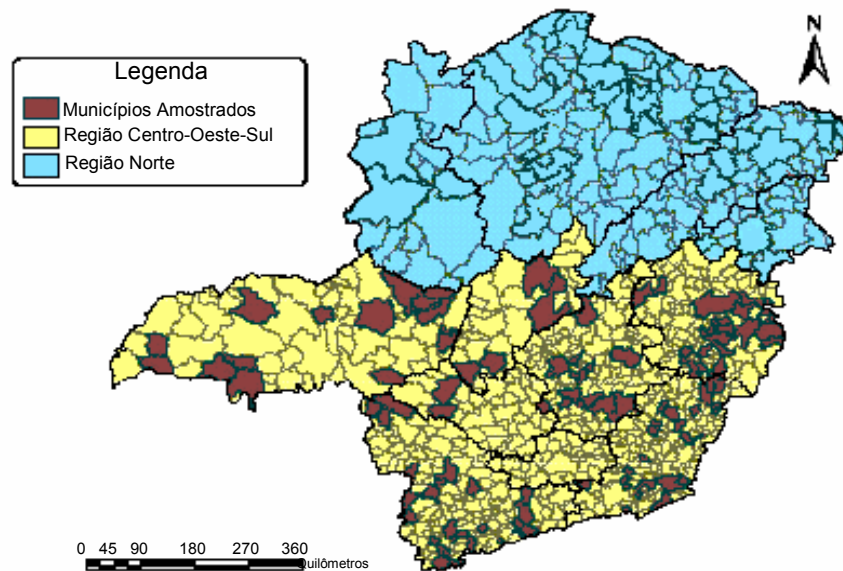


Figura 3. Localização de municípios com propriedades de ovinos amostradas nas doze mesorregiões em Minas Gerais, 2002.

4.2 - AMOSTRAGEM E DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

O trabalho foi realizado em regiões produtoras de caprinos e ovinos. A amostragem não probabilística foi utilizada para selecionar os produtores, já que não existe uma listagem representativa dos criadores de caprinos e ovinos no Estado, o que torna impossível uma amostragem ao acaso. Como universo amostral, foram selecionadas propriedades listadas pela CAPRILEITE, CAPRIMA, IMA, SEAPA e EMATER. Estas fontes de informação foram utilizadas para identificar, nos municípios que compõem a região em estudo, as principais áreas de produção e para estabelecer contatos locais. Como segundo critério, foram escolhidas propriedades nos municípios com maior representatividade, segundo dados populacionais dos rebanhos da Fundação João Pinheiro e IBGE.

O número mínimo de amostras testadas para realização da sorologia para toxoplasmose em caprinos foi calculado, considerando uma prevalência esperada de aproximadamente 30%, que se constitui num valor representativo de prevalências obtidas em estudos anteriores. Nos estudos sorológicos realizados em Minas Gerais tem sido observada prevalência variando entre 30,7 - 92,4% (Chiari, 1987), 36,8% (Machado & Lima, 1987) e 10,0% (Figueiredo *et al.*, 1997). Para o cálculo da amostra foram definidos os seguintes parâmetros: (1) prevalência esperada de toxoplasmose caprina de 30% (2) variação aceitável de erro de 0,05 (3) efeito de desenho de 2,0 (as amostras não são independentes, animais agrupados por propriedades) (4) nível de confiança de 95%. Utilizando o software Epi-Info, versão 6,0, foi determinada uma amostra mínima de 644 caprinos, sendo que 767 animais foram analisados neste estudo.

Como não existem estudos prévios realizados sobre toxoplasmose ovina em Minas Gerais, a prevalência esperada (30,0%) foi definida a partir de valores observados em trabalhos realizados para essa infecção encontrados nos estados de São Paulo (Langoni *et al.*, 1999), Rio Grande do Sul (Amaral *et al.*, 1978), Pernambuco (Silva *et al.*, 2003) e Bahia (Pitta-Godim *et al.*, 1999). Para o cálculo da amostra definiram-se os seguintes parâmetros: (1) prevalência esperada de toxoplasmose ovina de 30%; (2) variação aceitável de erro de 0,05; (3) efeito de desenho de 2,0 (as amostras não são independentes, animais agrupados por propriedades); (4) nível de confiança de 95%. O tamanho da amostra estimada foi de 645 animais sendo analisados 711 ovinos.

As amostras foram estratificadas segundo a composição aproximada dos rebanhos, definida como: quatro matrizes, dois jovens (seis a doze meses) e dois reprodutores adultos, sendo estes animais selecionados aleatoriamente em cada rebanho.

4.3 - QUESTIONÁRIOS

Durante a visita a cada fazenda, foi aplicado um questionário abordando dados da propriedade como fonte de água, instalações, manejo alimentar, sanitário e reprodutivo, tipo de exploração, presença de gatos e dados individuais de cada animal no qual foi coletado o sangue como: idade, tipo racial e sexo (Anexos).

4.4 - COLETA DE SANGUE

As amostras de sangue foram coletadas através da venipuntura da jugular, usando tubos tipo *Vacutainer*[®] sem anticoagulante. Em seguida à coleta, os tubos foram inclinados para coagulação e centrifugados para obtenção do soro. Após, o soro era acondicionado em tubos devidamente identificados mantidos em gelo em embalagem isotérmica e remetidos juntamente com os questionários ao IMA, em Belo Horizonte, que os encaminhou ao Laboratório de Virologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da EV-UFMG, onde foram estocados a -20°C até a realização dos testes laboratoriais.

4.5 - PROVAS SOROLÓGICAS

Os testes sorológicos foram realizados no laboratório de Toxoplasmose do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Os soros foram testados para toxoplasmose pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e pelo teste imunoenzimático (ELISA).

4.5.1- REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

A RIFI foi utilizada como reação de referência e realizada de acordo com a técnica descrita por Chiari *et al.* (1987) com algumas modificações.

O antígeno foi preparado no laboratório de Toxoplasmose do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG), a partir de taquizoítos da cepa RH do *T. gondii* obtidos por lavagem da cavidade peritoneal de camundongos infectados, realizada com solução salina tamponada com fosfatos (PBS) pH 7,2. O material foi centrifugado durante 20 segundos a 800g para eliminação de células contaminantes do camundongo. O sobrenadante foi coletado, sendo então, adicionado de formol PA até uma concentração de 0,5% do volume final. Após a formalização, foi homogeneizado e centrifugado por 10 minutos a 800g. O sobrenadante foi então descartado, o sedimento ressuspenso em PBS pH 7,2, homogeneizado e centrifugado por 10 minutos a 1000g. Este processo foi repetido duas vezes. A suspensão final de taquizoítos foi aplicada sobre as lâminas marcadas que foram utilizadas na realização da prova.

Os soros foram diluídos em PBS pH 7,2 nas diluições 1:64 e 1:256 (caprinos) e 1:16, 1:64 e 1:256 (ovinos). Todos os soros positivos até 1:256 foram testados novamente em diluições sucessivas até 1:32.768. Os soros diluídos foram distribuídos nas lâminas previamente preparadas com o antígeno de taquizoítos formalizados. Soros com títulos iguais ou superiores a 1:64 foram considerados positivos para caprinos seguindo Bahia (1993) e Cavalcante (2004). Para ovinos foram testadas duas diluições discriminantes, 1:16 e 1:64.

As lâminas foram então incubadas em câmara úmida por 30 minutos a 37°C. Após a lavagem com PBS pH 7,2 por três minutos e com água destilada, foi adicionado o conjugado anti-imunoglobulina G de cabra ou ovelha, dependendo do tipo de soro animal testado, marcada com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA). A diluição do conjugado

variou de acordo com a espécie do animal testado, sendo a concentração ideal encontrada para esta reação de 1:400 em caprinos e de 1:200 em ovinos. Os conjugados eram diluídos em azul de Evans (1:5000 em PBS Tween 80 a 2%). As lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida por 30 minutos a 37°C e a lavagem com PBS pH 7,2 por três minutos e com água destilada foi repetida. As lâminas, depois de secas foram preparadas com glicerina tamponada e lamínula.

A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência, Olympus IX70-FLA onde os resultados da reação puderam ser analisados. Quando a reação foi positiva, os parasitos apresentaram fluorescência verde-amarelada, caso contrário, a coloração dos parasitos foi avermelhada.

Soros de ovinos infectados e não infectados com *T. gondii*, gentilmente cedidos pelo professor Doutor Odilon Viddoto, foram utilizados como controles positivo e negativo. Para os caprinos, também foram utilizados como controles, soros de animais infectados e não infectados com *T. gondii* (Vitor *et al.*, 1999).

4.5.2- TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Toxoplasma gondii*

O ELISA realizado nos soros caprinos foi executado de acordo com a técnica descrita por Cavalcante (2004). Os parâmetros para a realização do ELISA no diagnóstico da toxoplasmose caprina foram determinados neste trabalho.

Para o preparo do antígeno para o ELISA, foi coletado o exsudato peritoneal de camundongos, previamente inoculados com a cepa RH de *T. gondii*. O material foi centrifugado por duas vezes em PBS pH 7,2 e adicionado 10mL de PBS pH 7,2 ao sedimento resultante. A contagem dos parasitos foi realizada em câmara hemocitométrica e a concentração destes foi acertada para uma concentração final de 1×10^9 taquizoitos por mL. A suspensão de parasitas foi então processada por ultrassom em 5 ciclos de 40 hertz (em banho de gelo), durante 1 minuto e com intervalos de 1 minuto entre cada ciclo, sendo o rompimento dos parasitos acompanhados em microscópio óptico. Após a sonicação o material foi centrifugado a 15000g 4°C durante 30 minutos. O sobrenadante (antígeno solúvel) foi então estocado a -20°C até o uso. A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Lowry (1951).

Para a reação, foram sensibilizadas placas de 96 orifícios previamente, com 100µL do antígeno em cada orifício na concentração de 0,5µg/orifício diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6), e incubadas durante 24 horas a 4°C.

No momento do uso, a solução de antígeno foi desprezada e a placa lavada quatro vezes com solução salina contendo Tween 20 a 0,05% (SST). Após secagem das placas por inversão sobre papel de filtro absorvente, os soros foram diluídos em PBS-T (Tween 20 a 0,05% em PBS pH 7,2), na diluição única de 1:100, e distribuídos nos orifícios da placa, seguida da incubação a 37°C por 45 minutos. Os soros foram ensaiados em duplicatas na mesma placa.

Após este período de incubação, foi realizada uma série de quatro lavagens com SST. Foram adicionados a cada orifício da placa, 100µL de conjugado na diluição de 1:5000 em PBS-T. O conjugado utilizado foi uma anti-IgG caprina marcada com peroxidase (SIGMA, produto N^o A-5420) para os soros de caprinos. Após 45 minutos de incubação, as placas foram lavadas (série de quatro lavagens com SST), seguida da adição do 100µL do substrato (3µg 0-fenilenoldiamino em 15 ml de solução de ácido cítrico e 3µL de H₂O₂ - 30vol.).

A reação foi interrompida após 20 minutos com 30µL de H₂SO₄ 1:20 por orifício e a leitura realizada em leitor de ELISA “BIO RAD” Modelo 3550, com filtro de 490nm. O branco da reação foi constituído por quatro orifícios por placa que tiveram todos os reagentes da reação (antígeno, conjugado e substrato) com exceção do soro.

Para realizar o diagnóstico da toxoplasmose ovina pelo ELISA foram padronizadas a diluição ideal de antígeno, do soro e do conjugado utilizando parâmetros próximos aos descritos por Cavalcante (2004), para toxoplasmose caprina.

Foram testadas diferentes concentrações de antígeno (1,0 µg/ml, 5,0 µg/ml e 10,0 µg/ml), de soro (1:100, 1:200 e 1:400) e de conjugado: anti-IgG ovina marcada com peroxidase (SIGMA, produto N^o A-3415) (1:5000 e 1:7500). Para a padronização foram utilizados seis soros de ovinos, três referenciais positivos e três negativos pela RIFI. Os testes foram realizados em duplicata.

Várias reações foram realizadas testando estas variáveis. Foram utilizados durante este processo de padronização, seis soros de ovinos (três positivos para toxoplasmose e três negativos pela RIFI) sempre em duplicata.

As leituras das placas foram realizadas em leitor de ELISA BIO-RAD Modelo 3550 a 490nm. A média dos dados absolutos de absorvância dos testes com os soros positivos e negativos foram utilizados para a determinação do “signal-to-ratio” (razão S/N), calculado pela divisão da média de absorvância dos soros positivos pela média de absorvância dos soros negativos (Rajasekariah *et al.*, 2001). Considerou-se como ponto ótimo de padronização os valores de S/N mais elevados obtidos nas diferentes concentrações e diluições.

Após o processo de padronização, a técnica utilizando soros ovinos foi realizada de acordo com o protocolo do ELISA para caprinos, já descrito sendo as concentrações ideais encontradas de 1,0 µg/ml de antígeno, 1:400 de soro e 1:7500 de conjugado.

O ponto de “cut off” para o ELISA foi a média de absorvância de oito amostras de soro de caprinos ou ovinos negativos para *T. gondii* mais três desvios padrão testados em cada placa. A média de absorvância dos soros testados em duplicata foi dividida pelo valor do “cut off” da placa com o objetivo de determinar o índice de reatividade (IR). Soros com valores de $IR \geq 1$ foram considerados positivos.

Paralelamente ao ELISA convencional foi realizado também um ELISA para avaliar a avidéz de anticorpo IgG. Apenas os soros detectados como positivos pelo ELISA convencional foram submetidos a esta nova reação que utilizou como agente dissociante da ligação antígeno anticorpo, uréia a 6M. O objetivo da utilização deste procedimento foi determinar se a infecção presente nos rebanhos estudados é recente ou crônica (Suarez-Aranda *et al.*, 2000) sendo os anticorpos de baixa avidéz típicos de infecção recente.

4.5.3- AVALIAÇÃO DA AVIDEZ DE ANTICORPOS IGG ANTI-*Toxoplasma gondii*

Esta técnica foi realizada de acordo com protocolo descrito por Bahia *et al.* (1995) modificado por Cavalcante (2004).

As placas de 96 poços foram sensibilizadas previamente com 100µL/orifício do antígeno na concentração de 5µg/ml para caprinos e de 1,0 µg/ml para ovinos, diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6), como descrito anteriormente no ELISA convencional. Após secagem das placas por inversão sobre papel de filtro absorvente, os soros foram diluídos em PBS-T (1:100 soros caprinos e 1:400 soros ovinos), e distribuídos nos orifícios das placas previamente sensibilizadas, seguida da incubação a 37°C por 45 minutos. Os testes foram realizados em duas séries duplicadas na mesma placa, sendo a metade da placa uma réplica da outra metade.

Após este período de incubação série de três lavagens foi realizada. Na primeira lavagem uma das séries (coluna de 1 a 6) foi lavada com PBS-T (100µL/orifício) e a outra série

(colunas 7 a 12) com uréia 6M em PBS-T (100µl/orifício) sob agitação por 5 minutos. As outras duas lavagens foram feitas com PBS-T (100µL/orifício) sob agitação, também em 2 ciclos de 5 minutos. Foi adicionado então, a cada orifício 100µL de conjugado na diluição de 1:5000 (caprinos) ou de 1:7500 (ovinos) em PBS-T. A partir da adição do conjugado o procedimento foi idêntico ao descrito para o ELISA convencional.

A avidéz de anticorpos IgG foi calculada como a razão entre a absorbância média para cada soro obtida nos orifícios tratados com uréia (AU) pelos não tratados (A) expressos em percentagem: $AU/A \times 100$ (Cozon *et al.*, 1998). Segundo Suarez-Aranda *et al.* (1999), valores de avidéz $\geq 50\%$ indicam toxoplasmose crônica, enquanto valores $< 50\%$ indicam infecção recente. Este critério foi utilizado no presente trabalho.

4.6 - CONFIABILIDADE DOS TESTES

Para avaliar a reprodutibilidade dos testes diagnósticos, amostras de aproximadamente 10% dos soros estudados (100 soros ovinos e 100 soros caprinos) foram selecionadas aleatoriamente e processadas em duplicatas para as diferentes técnicas utilizadas. As duplicatas recebiam um novo número de identificação e os testes foram realizados em ensaios mascarados.

4.7 - PROCESSAMENTO DOS DADOS

Para a entrada dos resultados sorológicos, foi utilizado o software EpiData 2.1. Para minimizar erros de digitação foi utilizada dupla entrada dos dados. Após a dupla entrada foi feita a consistência dos dados. As informações coletadas nas entrevistas foram selecionadas no banco de dados original do estudo.

4.8- ANÁLISE DOS DADOS

Foi criado um banco de dados com base nos questionários e nos resultados sorológicos. Para análise de dados foram utilizados os programas STATA versão 9.0 e Epi-Info versão 3.2, através das seguintes etapas:

1. Avaliação da reprodutibilidade de cada teste individualmente (aproximadamente 10% da amostra);
2. Prevalência da infecção pelo *T. gondii* para as duas técnicas sorológicas utilizadas;
3. Foi realizada a tabulação cruzada entre os diferentes testes utilizados e determinação dos índices de sensibilidade relativa e especificidade relativa e os índices de concordância Kappa e estimativas dos valores preditivos positivo e negativo conforme o quadro abaixo. O teste de RIFI foi utilizado como teste de referência para caprinos na diluição 1:64 e para ovinos em dois pontos de corte: 1:16 e 1:64.
4. Foram calculadas as frequências de todas as variáveis;
5. Análise univariada: comparações de frequências entre infectados e não infectados, utilizando-se o teste do qui-quadrado.

6. O efeito de covariáveis (sexo, idade, raça, características das fazendas, manejo, presença de gato, tipo de bebedouro, etc.) em relação à infecção por *T. gondii* foi realizada através de regressão logística. A medida de associação utilizada foi a *Odds* Relativa (OR). Utilizou-se o modelo hierárquico ajustado por máxima verossimilhança. Este modelo foi utilizado devido à estrutura hierarquizada dos dados, ou seja, foi considerado o agrupamento dos caprinos e dos ovinos nas unidades produtoras. Esta análise garantiu que fosse considerada a interdependência existente entre os caprinos e ovinos pertencentes a uma mesma unidade produtora.

7. Análise multivariada: As variáveis que na análise univariada apresentaram nível de significância $p < 0,25$ e algumas variáveis que não apresentaram diferenças significativas, mas que foram consideradas relevantes como fatores de risco para infecção por *T. gondii*, foram selecionadas para análise logística multivariada.

A modelagem foi realizada através da construção de modelos completos, com todas as variáveis selecionadas para a análise e descarte sucessivo das variáveis que não alteravam de modo significativo as “odds” relativas e os intervalos de confiança (HOSMER & LEMESHOW, 1989).

8. A frequência de anticorpos IgG de baixa e alta avidéz foi correlacionada com variáveis individuais (sexo, idade, tipo racial e mesorregião), através do teste Qui-quadrado.

5 - RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 – CAPRINOS

5.1.1. COMPARAÇÃO DOS TESTES: RIFI X ELISA

Dos 767 soros caprinos avaliados, foi encontrada positividade em 45,8% (IC 95% 42,2 – 49,3) pela RIFI. A soroprevalência encontrada para esses animais pelo teste do ELISA foi de 42,8% (IC 95% 39,25 – 46,27). Para a comparação das técnicas utilizou-se o índice Kappa sendo o valor encontrado de 0,79. A tabela 1 mostra os resultados da avaliação da especificidade, sensibilidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do teste de ELISA IgG em relação a RIFI IgG. A razão da verossimilhança para o teste positivo demonstra que utilizando o ELISA a chance do teste positivo ser verdadeiro é 12,2 vezes maior que a chance de ser falso. A razão da verossimilhança para o teste negativo foi de 0,16 significando que a chance de um teste negativo ser falso é 1: 0,16 em relação a ser verdadeiro.

A reprodutibilidade do ELISA e RIFI para soros caprinos foi avaliada em ensaio mascarado. Aproximadamente 10% da amostra (100 soros) foi testada observando-se uma ótima concordância (índice Kappa = 0,88) para o ELISA. A concordância para a RIFI foi boa (índice Kappa=0,67).

Tabela 1. Avaliação da sensibilidade, especificidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA ($IR \geq 1,00$) utilizando como reação de referência RIFI (1:64) em 767 soros de caprinos das regiões Centro oeste sul do Estado de Minas Gerais, 2002.

		RIFI		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
ELISA	POSITIVO	299	29	328
	NEGATIVO	52	387	439
TOTAL		351	416	767

Sensibilidade = 85,2% (80,9 – 88,6)

Especificidade = 93,0% (90,0 – 95,2)

Razão da Verossimilhança (+) = 12,2

Razão da Verossimilhança (-) = 0,16

Concordância observada = 0,89

Índice Kappa = 0,79

Valor preditivo positivo = 91,2% (87,4 – 93,9)

Valor preditivo negativo = 88,2 (84,7 – 91,0)

Proporção de positivos pela RIFI (1:64) = 0,46 ou 46% (IC 95% 42,22 – 49,29)

Proporção de positivos pelo ELISA ($IR \geq 1,00$) = 0,43 ou 43% (IC 95% 39,25 – 46,27)

5.1.2. CARACTERÍSTICAS POPULACIONAIS DAS AMOSTRAS ESTUDADAS.

Os 767 caprinos estudados são provenientes de diferentes mesorregiões (Centro Oeste Sul) do Estado de Minas Gerais, sendo 2,1% dos animais da Central Mineira, 13,3% da Metropolitana de Belo Horizonte, 2,1% do Oeste de Minas, 28,4% do Sul/ Sudoeste de Minas, 13,3% do Triângulo Mineiro e Alto do Paranaíba, 17,5% do Rio Doce e 23,3% da Zona da Mata.

As características populacionais do rebanho são apresentadas na tabela 02. Neste rebanho 81,1% dos animais pertencem ao sexo feminino e apenas 18,9% do sexo masculino. Em relação à faixa etária foi observado 26,7% dos animais com idade igual ou menor a 12 meses, 31,3% animais entre 13 e 24 meses, 21,6% de 25 a 36 meses e 20,4% com idade superior a 36 meses. Em relação ao tipo racial, 61,8% dos caprinos foram considerados puros (Alpina, Anglo Nubiana, Merino, Parda, Parda Alpina, Saanem ou Toggenburg), 22,8% mestiços (resultante do cruzamento das diferentes raças) e 15,4% sem raça definida (SRD). A distribuição dos animais de acordo com suas características e com as mesorregiões de origem pode ser observada na tabela 2.

5.1.3. ANÁLISE DESCRITIVA DAS PROPRIEDADES (UNIDADES PRODUTORAS) COM REBANHO CAPRINO

Foram estudadas 192 propriedades produtoras do Estado de Minas Gerais. As unidades produtoras foram classificadas de acordo com a espécie animal, sendo 83 propriedades (43,2%) exclusivas para rebanho caprino, 77 (40,1%) exclusivas para rebanho ovino e 32 (16,7%) onde a criação destes pequenos ruminantes é realizada de forma consorciada.

As propriedades que possuem caprinos estão localizadas em oito mesorregiões do Estado sendo encontradas 2 (1,7%) na Central Mineira, 15 (13,0%) na Metropolitana de Belo Horizonte, 2 (1,7%) em Oeste de Minas, 35 (30,4%) em Sul-Sudoeste de Minas, 15 (13,0%) no Triângulo Mineiro e Alto do Paranaíba, 19 (16,5%) em Rio Doce e 27 (23,5%) propriedades na Zona da Mata. As características das propriedades foram avaliadas através dos questionários e estão apresentadas na tabela 3.

A origem da água oferecida aos caprinos foi categorizada de acordo com sua exposição. Açude, lagoa e nascente foram considerados fonte de água exposta. Cacimba, poço profundo, poço artesiano, cisterna e água tratada foram considerados como fonte de água não exposta, córrego e rio como água corrente. Em 43,6% das propriedades a fonte de água é do tipo não exposta; em 37,6% a água era exposta. Em relação ao tipo de bebedouro, 38,8% possuíam vasilhas dentro das instalações enquanto 30,1% dos animais bebiam direto da fonte.

A presença de apriscos foi encontrada em 56,3% das propriedades. Das 58 propriedades que possuíam aprisco, o piso ripado foi encontrado com maior frequência (62,1%). A presença de gatos foi observada em 54,4% das propriedades.

Foi observada a presença de instalações para estocagem de alimentos em 51,5% das propriedades sendo que em 44,4% das propriedades os gatos tinham acesso a estas instalações. Em 30,0% e 35,4% os gatos tinham acesso, respectivamente, a água e baias dos animais.

Quanto a distribuição do tipo de exploração do rebanho, foram encontrados 34,6% dos rebanhos criados em regime extensivo, 34,6% semi-intensivo e 30,8% criação intensiva. O tipo de exploração mais frequente em caprinos das regiões centro oeste sul de Minas Gerais foi a leiteira, em 40,6% seguida da exploração para carne em 25,7% das propriedades.

A ocorrência de aborto e de má formação fetal foi notificada em 38,3% e 14,8% das propriedades, respectivamente.

Todas as variáveis que continham a opção mista incluíam mais de uma opção de resposta.

Tabela 3. Características das unidades produtoras de Caprinos do Estado de Minas Gerais, 2002, incluídas neste estudo.

VARIÁVEIS	n**	%
Fonte de água (N*=101)		
Água não exposta	44	43,6
Água exposta	38	37,6
Água corrente	04	4,0
Misto	15	14,8
Tipo de bebedouro (N*=103)		
Vasilhas dentro das instalações	40	38,8
Vasilhas fora das instalações	17	16,5
Os animais bebem direto da fonte	31	30,1
Misto	15	14,6
Presença de aprisco (N*=103)		
Sim	58	56,3
Não	45	43,7
Tipo de piso aprisco (N*=58)		
Chão batido	09	15,5
Ripado	36	62,1
Cimentado	05	8,6
Misto	08	13,8
Presença de gatos (N*=101)		
Sim	55	54,4
Não	46	45,6
Instalação para estocagem de alimentos (N*=101)		
Sim	52	51,5
Não	49	48,5
Acesso de gatos a estas instalações (N*= 63)		
Sim / Às vezes	28	44,4
Não	35	55,6
Acesso de gatos a água dos animais (N*=100)		
Sim / Às vezes	30	30,0
Não	70	70,0

N*= número de unidades produtoras com respostas, excluídas as não respostas.

n**= número de unidades produtoras com as diferentes respostas.

Tabela 3. Continuação.

VARIÁVEIS	n**	%
Acesso de gatos a baía dos animais (N*= 96)		
Sim / Às vezes	34	35,4
Não	62	64,6
Regime de exploração (N*= 52)		
Extensivo	18	34,6
Intensivo	16	30,8
Semi-intensivo	18	34,6
Tipo de exploração (N*= 101)		
Carne	26	25,7
Leite	41	40,6
Mista	34	33,7
Ocorrência de aborto na propriedade (N*= 115)		
Sim	44	38,3
Não	71	61,7
Ocorrência de má formação fetal (N*= 115)		
Sim	17	14,8
Não	98	85,2

N*= número de unidades produtoras com respostas, excluídas as não respostas.

n**= número de unidades produtoras com as diferentes respostas.

Tabela 2: Composição dos rebanhos caprinos de acordo com sexo, faixa etária e tipo racial de diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002.

Mesorregião	Sexo						Idade em meses						Tipo Racial					
	Macho		Fêmea		≤12	13 a 24	25 a 36	>36	Puros		Mestiços		SRD					
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%				
Central de Minas	01	6,3	15	93,8	3	18,8	6	37,5	0	0	7	43,8	1	6,3	7	43,8	8	50,0
Metropolitana de Belo Horizonte	16	15,7	86	84,3	22	21,6	21	20,6	22	21,6	37	36,3	85	83,3	3	2,9	12	11,8
Oeste de Minas	03	18,8	13	81,3	3	18,8	5	31,3	6	37,5	2	12,5	13	81,3	0	0	3	18,8
Sul/Sudoeste de Minas	34	15,6	179	82,1	71	32,6	64	29,4	40	18,3	43	19,7	172	78,9	24	11,1	9	4,1
Triângulo Mineiro/Alto do Paranaíba	24	23,5	78	76,5	24	23,5	33	32,4	23	22,5	22	21,6	49	48,0	28	27,5	21	20,6
Vale do Rio Doce	32	23,9	98	73,1	45	34,4	51	38,9	25	19,1	10	7,6	25	18,6	77	57,5	22	16,4
Zona da Mata	33	18,4	146	81,6	36	20,1	59	33,0	49	27,4	35	19,6	111	62,0	29	16,2	39	21,8
TOTAL *	143	18,9	615	81,1	204	26,7	239	31,3	165	21,6	156	20,4	456	61,8	168	22,8	114	15,4

* Total de caprinos analisados: 758 animais (sexo), 764 animais (faixa etária) e 738 animais (tipo racial).

5.1.4. DETERMINAÇÃO DA SORO-PREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE CAPRINA NAS REGIÕES CENTRO OESTE SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Dos 767 soros caprinos analisados, 54,2% dos soros foram considerados negativos pela RIFI ($< 1:64$). Entre os positivos (45,8%), 12,4% apresentaram título de 1:64, 9,5% de 1:256, 9,1% de 1:1024, 4,4% de 1:4096, 2,9% de 1:8192, 2,3% de 1:16384 e 5,1% com título igual ou superior a 1:32768.

Para o teste do ELISA, o índice de reatividade (IR) variou de 0,00 a 8,73. Dos soros analisados, 57,2% apresentou $IR < 1,00$ e 43,8% $IR \geq 1,00$. Destes, em 5,1% o IR estava entre 1,00 e 1,99; 8,3% entre 2 e 2,99; 14,0% entre 3 e 3,99; 11,4% entre 4 e 4,99 e 3,9% dos soros caprinos apresentou $IR > 5$.

Na tabela 4 pode ser observada a prevalência dos caprinos positivos de acordo com a mesorregião de origem. Os animais considerados positivos foram distribuídos de acordo com a idade, raça e sexo (tab. 5). Foi observada uma tendência de aumento do índice de positividade em relação ao aumento da idade dos animais, sendo que os animais com idade superior a 36 meses apresentaram prevalência de 50,0% na RIFI e de 47,4% no ELISA. Apesar desta tendência observada a diferença entre as faixas etárias não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Entre os animais de tipo racial puro foi encontrado o maior índice de positividade pela RIFI e ELISA (47,8% e 46,3%), seguidos dos mestiços (44,0% e 39,3%). Os animais sem padrão racial definido foram os que apresentaram a menor prevalência de anticorpos IgG anti- *T. gondii*. O teste do Qui-quadrado de Tendência Linear mostrou diferença significativa para essa variável quando analisada pela reação de ELISA. Não houve diferença significativa quando foi analisada a variável sexo ($p > 0,05$).

5.1.5. ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO

5.1.5.1. ANÁLISE UNIVARIADA

Para determinação dos fatores de risco foi realizada inicialmente a análise univariada utilizando-se os resultados sorológicos obtidos através do ELISA por terem apresentados melhor reprodutividade que a RIFI.

A tabela 6 apresenta a análise univariada para todas as variáveis estudadas. As variáveis individuais e de rebanho foram: sexo; faixa etária (categorizada em menores de 12 meses a 36 meses e animais com idade superior a 36 meses); tipo racial (categorizado em animais sem raça definida, animais mestiços e puros); mesorregião (mesorregiões central mineira, oeste de minas e metropolitana de Belo Horizonte foram agrupadas devido ao pequeno número de caprinos existentes nas duas primeiras); presença de aprisco, tipo de piso do aprisco (categorizado em ripado, chão batido, cimentado e misto); presença de gatos, existência de instalação para estocagem de alimentos, acesso de gatos a estas instalações e às baias dos animais, fonte de água, categorizadas em água não exposta (cacimba, poço profundo, poço artesiano, cisterna e água tratada), água exposta (açude, lagoa e nascente),

água corrente (córrego e rio) e misto; tipo de bebedouro (vasilhas dentro das instalações, vasilhas fora das instalações, direto da fonte e misto); acesso de gatos a água dos animais, tipo de exploração (leite, carne e misto) e regime de exploração (extensivo, semi-intensivo e intensivo).

Foram selecionadas para a análise multivariada as variáveis que apresentaram $p < 0,25$ e as variáveis que foram consideradas relevantes como fator de risco para infecção por *T. gondii*, mesmo com $p > 0,25$ (Tab. 7). Para a construção dos modelos foram excluídas as variáveis com baixa frequência e que apresentaram colinearidade.

5.1.5.2. ANÁLISE MULTIVARIADA

Foram selecionadas as seguintes variáveis: tipo racial, presença de aprisco, presença de gatos, acesso de gatos a baias e a água oferecida aos caprinos, tipo de bebedouro, tipo de exploração e faixa etária. Esta última variável foi incluída no modelo por ser um provável fator de risco devido ao caráter crônico da toxoplasmose. As variáveis tipo de piso e fonte de água embora tenham apresentado $p < 0,05$ na análise univariada, foram excluídas devido a baixa frequência de resposta nos questionários.

A alta colinearidade entre o tipo racial e a presença de aprisco, levou a construção de dois modelos: um modelo onde a presença do aprisco estava como co-variável sendo excluída a variável tipo racial e outro modelo onde a presença do aprisco era excluída e incluía-se o tipo racial como co-variável.

Nas tabelas 7 e 8 estão apresentados os fatores de risco para a toxoplasmose caprina, com as “odds” relativas brutas e ajustadas e intervalo de confiança de 95%. As variáveis que permaneceram nos modelos finais foram a faixa etária dos caprinos, o acesso dos gatos a água dos caprinos, presença de aprisco (Tab. 7) e o tipo racial puro (Tab. 8).

A presença de aprisco nas unidades produtoras aumenta aproximadamente 1,8 vezes a chance dos caprinos estarem infectados com o *T. gondii*. Animais com idade superior a 36 meses também apresentaram maior risco de infecção quando comparados aos animais mais jovens. Animais de tipo racial puro possuem aproximadamente 2,5 vezes mais chance de estarem infectados quando comparados a caprinos de outros tipos raciais e animais provenientes de propriedades onde os gatos tinham acesso a água dos caprinos têm um risco 0,37 menor de ter toxoplasmose que caprinos de propriedade aonde os gatos não tinham acesso à água.

Tabela 4. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA.

Mesorregiões *	Amostras examinadas	Amostras positivas			
		RIFI		ELISA	
		N	%	N	%
Central Mineira	16	3	18,8	3	18,8
Metropolitana de Belo Horizonte	102	46	45,1	43	42,2
Oeste de Minas	16	14	87,5	12	75,0
Sul /Sudoeste de Minas	218	105	48,2	111	50,9
Triângulo Mineiro /Alto do Paranaíba	102	45	44,1	42	41,2
Vale do Rio Doce	134	48	35,8	46	34,3
Zona da Mata	179	90	50,3	71	39,7
TOTAL	767	351	45,8	328	42,8

* p= 0,001 (RIFI 1:64) e p= 0,02 (ELISA) (Sul /Sudoeste de Minas e Vale do Rio Doce)

Tabela 5. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA de acordo com a idade, raça e sexo

Variáveis	Amostras examinadas	Amostras positivas				
		RIFI		ELISA		
		n	%	n	%	
IDADE (meses) N= 764	≤ 12	204	85	41,7	77	37,7
	13 – 24	239	109	45,6	102	42,7
	25 – 36	165	79	47,9	75	45,5
	> 36	156	78	50,0	74	47,4
TIPO RACIAL * N= 738	PUROS	456	218	47,8	211	46,3
	MESTIÇOS	168	74	44,0	66	39,3
	SRD^a	114	50	43,9	39	34,2
SEXO N= 758	MACHOS	143	60	42,0	55	38,5
	FÊMEAS	615	298	47,0	270	43,9

^a SRD – Sem raça definida. * p= 0,038 para ELISA (Tipo Racial Puro)

Tabela 6. Determinação dos fatores de risco através da análise univariada para avaliação dos aspectos soropidemiológicos da toxoplasmose caprina.

Variáveis	OR	IC – 95%	p
Sexo	0,90	0,58 – 1,40	0,63
Faixa etária			
≤ 12 meses a 36 meses	1		
> 36	1,08	0,92 – 1,26	0,35
Tipo racial			
SRD	1	-	-
Mestiço	2,02	0,85 – 4,82	0,11
Puro	2,21	1,05 – 4,67	0,03
Mesorregião			
Central Mineira + Metropolitana de BH + Oeste de Minas	1	-	-
Sul/Sudoeste de Minas	1,35	0,56 – 3,14	0,49
Triângulo Mineiro/Alto do Paranaíba	0,96	0,35 – 2,64	0,94
Vale do Rio Doce	0,64	0,25 – 1,64	0,35
Zona da Mata	0,78	0,32 – 1,88	0,58
Possuir aprisco	1,95	1,09 – 3,48	0,02
Tipo de piso do aprisco			
Ripado	1	-	-
Chão batido	0,88	0,28 – 2,69	0,82
Cimentado	0,61	0,16 – 2,35	0,47
Misto	0,33	0,10 – 1,06	0,06
Presença de gatos	0,70	0,38 – 1,30	0,25
Instalação para estocagem de alimentos	1,06	0,58 – 1,97	0,84
Acesso de gatos a instalações de alimentos	0,64	0,29 – 1,42	0,27
Acesso de gatos a baias dos caprinos	0,56	0,29 – 1,09	0,09
Fonte de água			
Água não exposta	1	-	-
Água exposta	0,85	0,45 – 1,62	0,63
Água corrente	0,59	0,12 – 2,90	0,52
Misto	0,51	0,21 – 1,22	0,13
Tipo de Bebedouro			
Vasilhas dentro das instalações	1	-	-
Vasilhas fora das instalações	0,44	0,19 – 1,01	0,05
Os animais bebem direto da fonte	0,34	0,17 – 0,69	0,00
Misto	0,48	0,20 – 1,13	0,09

Tabela 6. Continuação

Variáveis	OR	IC – 95%	P
Acesso de gatos a água dos animais	0,41	0,21 – 0,80	0,00
Tipo de exploração			
Leite	1	-	-
Carne	0,49	0,24 – 1,03	0,06
Misto	0,69	0,35 – 1,35	0,28
Regime de exploração			
Extensivo	1	-	-
Semi-intensivo	1,68	0,63 – 4,46	0,29
Intensivo	0,83	0,31 – 2,21	0,72
Ocorrência de aborto na propriedade	0,96	0,89 – 1,03	0,27
Ocorrência de má formação fetal	0,98	0,89 – 1,08	0,70

Tabela 7. Fatores de risco para Toxoplasmose caprina em diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002. MODELO 1

Variáveis	ODDS RELATIVA BRUTA	ODDS RELATIVA AJUSTADA
	(IC 95%)	(IC 95%)
Presença de aprisco		
Sim	1,95 (1,09 – 3,48)	1,83 (1,01 – 3,31)
Faixa etária		
> 36	1,08 (0,92 – 1,26)	1,21 (1,02 – 1,44)
Acesso de gatos a água dos animais	0,41 (0,21 – 0,80)	0,37 (0,19 – 0,71)

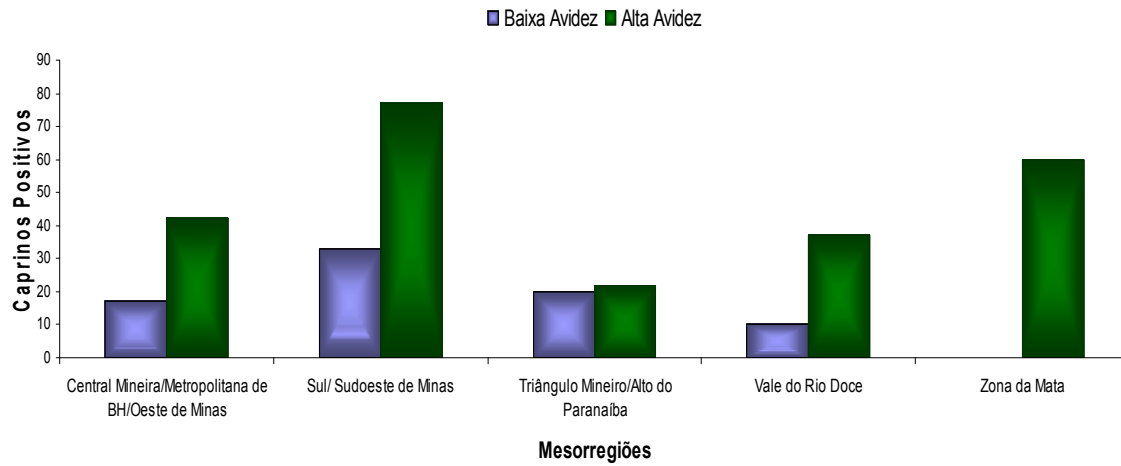
Tabela 8. Fatores de risco para Toxoplasmose caprina em diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002. MODELO 2.

Variáveis	ODDS RELATIVA BRUTA	ODDS RELATIVA AJUSTADA
	(IC 95%)	(IC 95%)
Tipo Racial		
Raça Pura	2,21 (1,05 – 4,67)	2,49 (1,11 – 5,59)
Faixa etária		
> 36	1,08 (0,92 – 1,26)	1,26 (1,04 – 1,51)
Acesso de gatos a água dos animais	0,41 (0,21 – 0,80)	0,46 (0,22 – 0,93)

5.1.6. AVIDEZ DE ANTICORPOS IgG ANTI *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS

A avidéz de anticorpos IgG foi utilizada como marcador sorológico de infecção recente e crônica pelo *T. gondii*. Para a análise da avidéz dessa imunoglobulina foram avaliados apenas os soros considerados positivos pelo ELISA. Os soros de 328 animais foram submetidos ao ELISA de avidéz sendo que 73,2% possuíam anticorpo IgG de alta avidéz (infecção crônica) e 26,8% anticorpo IgG de baixa avidéz (sugestivo de infecção aguda). Considerando os soros de todos os caprinos examinados neste estudo (767 animais), 31,3% dos animais provavelmente estavam na fase crônica, 11,5% na fase aguda.

A correlação da avidéz de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* com as variáveis individuais foi avaliada pelo Teste do Qui-quadrado. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para sexo, tipo racial e idade. A única variável que apresentou correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) foi a mesorregião de procedência do soro animal. A distribuição dos animais com imunoglobulinas de alta e baixa avidéz, de acordo com a mesorregião, está apresentada na figura 4.



* $p = 0,001$ (Triângulo Mineiro/ Alto do Paranaíba e Zona da Mata)

Figura 4. Distribuição dos caprinos de acordo com a avidéz apresentada pelos anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii* dos soros procedentes das diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais.

5.2. OVINOS

5.2.1. COMPARAÇÃO DOS TESTES: RIFI X ELISA

Foram analisados 711 soros ovinos originados de diferentes mesorregiões do Estado. Através do ELISA foi encontrada uma prevalência de 31,2% (IC 95% 27,67 – 34,49). Para a RIFI foram analisadas duas diluições do soro como critério de positividade e encontrado 43,2% (IC 95% 39,52 – 46,82) para título de 1:64 e de 68,8% (IC 95% 65,36 – 72,19) para 1:16.

Os índices Kappa mostram concordância sofrível (0,33) para a comparação RIFI 16 x ELISA e boa (0,68) para RIFI 64 x ELISA. A especificidade, sensibilidade, razão da verossimilhança, concordância esperada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA IgG em relação a RIFI IgG, considerando as duas diluições do soro 1:16 e 1:64, também foram avaliados utilizando os resultados do soros ovinos (tabs. 9 e 10).

As razões da verossimilhança para o teste positivo e negativo para os dois pontos de corte testados demonstram que diluição 1:64 é a que discrimina melhor os animais infectados dos não infectados.

As reprodutibilidades do ELISA e da RIFI utilizando-se as duas diluições (1:64 e 1:16) foram consideradas boas (índices Kappa = 0,62, 0,71 e 0,62, respectivamente).

Tabela 9. Avaliação da sensibilidade, especificidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA utilizando como reação de referência RIFI (1:16) em 711 soros de ovinos das regiões Centro oeste sul do Estado de Minas Gerais.

		RIFI (1:16)		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
ELISA	POSITIVO	218	03	221
	NEGATIVO	271	219	490
TOTAL		489	222	711

Sensibilidade = 44,6% (40,1 – 49,1)

Especificidade = 98,6% (95,8 – 99,7)

Razão da Verossimilhança (+) = 31,86

Razão da Verossimilhança (-) = 0,56

Concordância observada = 0,61

Índice Kappa = 0,32

Valor preditivo positivo = 98,6% (IC 95% 95,8 – 99,6)

Valor preditivo negativo = 44,7% (IC 95% 40,2 – 49,2)

Proporção de positivos pela RIFI (1:16) = 0,69 (IC 95% 65,36 – 72,19)

Proporção de positivos pelo ELISA = 0,31 (IC 95% 27,67 – 34,49)

Tabela 10. Avaliação da sensibilidade, especificidade, razão da verossimilhança, concordância observada, índice Kappa, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do ELISA utilizando como reação de referência RIFI (1:64) em 711 soros de ovinos das regiões Centro oeste sul do Estado de Minas Gerais.

		RIFI (1:64)		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
ELISA	POSITIVO	210	11	221
	NEGATIVO	97	393	490
TOTAL		307	404	711

Sensibilidade = 68,4% (62,8 – 73,5)

Especificidade = 97,3% (95,0 – 98,6)

Razão da Verossimilhança (+) = 25,34

Razão da Verossimilhança (-) = 0,32 = 3,12

Concordância observada = 0,85

Índice Kappa = 0,68

Valor preditivo positivo = 95,0% (IC 95% 91,0 – 97,4)

Valor preditivo negativo = 80,2% (IC 95% 76,3 – 83,6)

Proporção de positivos pela RIFI (1:64) = 0,43 (IC 95% 39,52 – 46,82)

Proporção de positivos pelo ELISA = 0,31 (IC 95% 27,67 – 34,49)

5.2.2. CARACTERÍSTICAS POPULACIONAIS DAS AMOSTRAS ESTUDADAS

Foram analisados soros de 711 ovinos provenientes de oito mesorregiões do Estado de Minas Gerais. Destes animais, 18 (2,5%) eram de Campo das Vertentes, 11 (1,5%) de Central de Minas, 95 (13,4%) da Metropolitana de Belo Horizonte, 31 (4,4%) do Oeste de Minas, 137 (19,3%) do Sul/Sudeste de Minas, 144 (20,3%) do Triângulo/Alto do Paranaíba, 130 (18,3%) do Vale do Rio Doce e 145 (20,4%) da Zona da Mata.

Como ocorreu para caprinos, o número de fêmeas foi superior ao número de machos, 73,4% e 26,6%, respectivamente. Os ovinos também foram agrupados de acordo com a faixa etária e tipo racial (Bergamácia, Cara Branca, Crioula, Merino, Morada Nova, Rabo Largo, Santa Inês, Suffolk, Texel) e a composição do rebanho ovino acompanhou o perfil de composição do rebanho caprino sendo mais frequentes animais com idade inferior ou igual a 12 meses (30,2%) e animais de raça pura (54,3%). A composição do rebanho ovino quanto ao sexo, faixa etária e tipo racial de acordo com as mesorregiões de origem, está representada na tabela 11.

Tabela 11: Composição dos rebanhos ovinos de acordo com sexo, faixa etária e tipo racial de diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, 2002.

Mesorregião	Sexo						Idade em meses						Tipo Racial					
	Macho		Fêmea		≤12		13 a 24		25 a 36		>36		Puros		Mestiços		SRD	
	n	%	n	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Campo das Vertentes	04	22,2	13	72,2	05	27,8	06	33,3	07	38,9	0	0	12	3,3	06	33,3	0	0
Central de Minas	01	9,1	10	90,9	02	18,2	03	27,3	03	27,3	03	27,3	03	0,8	0	0	08	72,7
Metropolitana de Belo Horizonte	33	34,7	62	65,3	34	35,8	23	24,2	16	16,8	22	23,2	82	22,8	02	2,1	03	3,2
Oeste de Minas	07	22,6	24	77,4	05	16,1	04	12,9	20	64,5	02	6,5	16	4,5	15	48,4	0	0
Sul/Sudoeste de Minas	35	25,5	101	73,7	44	32,1	44	32,1	32	23,4	17	12,4	74	20,6	37	27,0	23	16,8
Triângulo Mineiro/Alto do Paranaíba	33	22,9	111	77,1	49	34,0	53	36,8	14	9,7	28	19,4	54	15,0	40	27,8	42	29,2
Vale do Rio Doce	41	31,5	89	68,5	45	34,6	37	28,5	29	23,1	18	13,8	46	12,8	29	22,3	47	36,2
Zona da Mata	34	23,4	110	75,9	31	21,4	55	37,9	36	24,8	23	15,9	72	20,0	21	14,5	29	20,0
TOTAL *	188	26,6	520	73,4	215	30,2	225	31,6	158	22,2	113	15,9	359	54,3	150	22,7	152	23,0

* Total de ovinos analisados: 708 animais (sexo), 711 animais (faixa etária) e 661 animais (tipo racial).

5.2.3. ANÁLISE DESCRITIVA DAS PROPRIEDADES (UNIDADES PRODUTORAS)

ESTUDADAS QUE POSSUEM REBANHO OVINO

Os 711 ovinos estudados estão distribuídos em 109 propriedades presentes em oito mesorregiões do Estado de Minas Gerais. Estas unidades produtoras estão localizadas:, 02 em Campo das Vertentes, 03 na Central de Minas, 15 na Metropolitana de Belo Horizonte, 04 no Oeste de Minas, 24 no Sul/Sudeste de Minas, 20 no Triângulo/Alto do Paranaíba 19 no Vale do Rio Doce e 22 na Zona da Mata.

A análise descritiva destas propriedades é apresentada na tabela 12. Água exposta ao meio ambiente foi a fonte de água mais citada (42,1% das propriedades). Em 47,0% das propriedades os animais bebem água direto da fonte. A maioria (59,2%) não possuía aprisco. Das 40 propriedades que possuíam aprisco, o chão batido foi o tipo mais utilizado (35,0%). Os gatos estavam presentes em 62,1% das propriedades e 43,6% possuíam instalações para estocagem de alimentos. O acesso dos gatos às instalações para estocagem de alimentos, à água e à baia dos animais foram registrados em 50,0%. O mesmo valor foi para a ausência dos felídeos a estes locais.

O único tipo de exploração citada nos questionários foi a de corte, sendo que a maioria das propriedades (54,1%) mantém o regime de exploração extensivo seguido do semi-intensivo (41,0%).

A ocorrência de aborto e de má formação fetal foi relatada em 19,3% e 15,6% das propriedades, respectivamente. Como ocorreu no estudo com caprinos, todas as variáveis que continham a opção mista incluíam mais de uma opção de resposta.

5.2.4. DETERMINAÇÃO DA SORO-PREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE OVINA NAS REGIÕES CENTRO OESTE SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS

O índice de reatividade calculado a partir dos resultados do ELISA para os soros ovinos variou de 0,00 a 7,07 sendo considerados positivos aqueles com valores maiores ou iguais a 1,00 (31,1% dos animais). Cerca de 68,9% dos soros analisados apresentou $IR < 1,00$. Entre os animais positivos, 6,0% apresentou IR entre 1,00 e 1,99; 7,17% dos soros possuem IR entre 2,00 e 2,99; 9,71% IR entre 3 e 3,99; 5,62% IR entre 4 e 4,99 e aproximadamente 3,38% dos soros caprinos apresentou $IR \geq 5$.

Pela RIFI 56,8% da amostra de soros dos ovinos eram negativos. Entre os 43,2% positivos, 12,7% foram reagentes no título de 1:64, 7,3% de 1:256, 9,0% de 1:1024, 2,5% de 1:4000, 1,4% de 1:8000, 1,4% de 1:16000 e 8,9% nos títulos igual ou superiores a 1:32000.

Na tabela 13 é mostrada a distribuição dos animais considerados positivos pelas técnicas de acordo com a mesorregião. Sul/Sudoeste de Minas se destaca como sendo a mesorregião com o maior índice de positividade (44,5%).

O teste do Qui-quadrado de Tendência Linear mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada a idade dos animais e os resultados sorológicos (ELISA e RIFI) mostrando uma tendência de aumento da prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nos grupos de animais com idade mais avançada (Tab. 14). Em relação ao sexo e tipo racial a análise não mostrou haver diferença significativa ($p > 0,05$).

Tabela 12. Característica das unidades produtoras de Ovinos do Estado de Minas Gerais, 2002, incluídas neste estudo.

Variáveis	n **	%
Fonte de água (N*= 95)		
Água não exposta	31	35,6
Água exposta	40	42,1
Água corrente	07	7,4
Misto	17	17,9
Tipo de bebedouro (N*= 100)		
Vasilhas dentro das instalações	18	18,0
Vasilhas fora das instalações	12	12,0
Os animais bebem direto da fonte	47	47,0
Misto	23	
Presença de aprisco (N*= 98)		
Sim	40	40,8
Não	58	59,2
Tipo de piso aprisco (N*= 40)		
Chão batido	14	35,0
Ripado	10	25,0
Cimentado	12	30,0
Misto	04	10,0
Presença de gatos (N*= 95)		
Sim	59	62,1
Não	36	37,9
Instalação para estocagem de alimentos (N*= 94)		
Sim	41	43,6
Não	53	56,4
Acesso de gatos a estas instalações (N*= 58)		
Sim / Às vezes	29	50,0
Não	29	50,0
Acesso de gatos a água dos animais (N*= 90)		
Sim / Às vezes	45	50,0
Não	45	50,0
Acesso de gatos a baia dos animais (N*= 82)		
Sim / Às vezes	41	50,0
Não	41	50,0

N*= número de unidades produtoras com respostas, excluídas as não respostas.

n**= número de unidades produtoras com as diferentes respostas.

Tabela 12. Continuação.

Variáveis	n **	%
Regime de exploração (N*= 61)		
Extensivo	33	54,1
Intensivo	02	3,3
Semi-intensivo	25	41,0
Misto	01	1,6
Tipo de exploração (N*= 92)		
Carne	92	100,0
Ocorrência de aborto na propriedade (N*= 109)		
Sim	21	19,3
Não	88	80,7
Ocorrência de mal formação fetal (N*= 109)		
Sim	17	15,6
Não	92	84,4

N*= número de unidades produtoras com respostas, excluídas as não respostas.

n**= número de unidades produtoras com as diferentes respostas.

Tabela 13 - Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de ovinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA.

Mesorregiões *	Amostras examinadas	Amostras positivas			
		RIFI 1:64		ELISA	
		n	%	n	%
Campo das Vertentes	18	06	33,3	02	11,1
Central Mineira	11	02	18,2	02	18,2
Metropolitana de Belo Horizonte	95	42	44,2	30	31,6
Oeste de Minas	31	14	45,2	12	38,7
Sul/Sudoeste de Minas	137	69	50,4	61	44,5
Triângulo Mineiro/Alto do Paranaíba	144	60	41,7	37	25,7
Vale do Rio Doce	130	49	37,7	30	23,3
Zona da Mata	145	65	44,8	47	32,4
TOTAL	711	307	43,2	221	31,1

* p = 0,301 (RIFI 1:64) e p=0,002 (ELISA) (Sul/ Sudoeste de Minas)

Tabela 14 Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos naturalmente infectados, oriundos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002, testados pela RIFI e pelo ELISA de acordo com a idade, raça e sexo.

Variáveis		Amostras examinadas	Amostras positivas			
			RIFI (1:64)		ELISA	
			n	%	n	%
IDADE* (meses) N= 711	≤ 12	215	75	34,9	58	27,0
	13 – 24	225	90	40,0	63	28,0
	25 – 36	158	75	47,5	50	31,6
	> 36	113	67	59,3	50	44,2
RAÇA N= 661	PUROS	359	160	44,6	113	31,5
	MESTIÇOS	150	66	44,0	52	34,7
	SRD^a	152	58	38,2	37	24,3
SEXO N= 708	MACHOS	188	79	42,0	57	30,3
	FÊMEAS	520	228	43,8	164	31,5

^a SRD – Sem padrão racial definido. * p= 0,008 (ELISA) e p = 0,000 (RIFI 1:64) (idade > 36 meses)

5.2.5. ANÁLISE DE FATORES DE RISCO

5.2.5.1. ANÁLISE UNIVARIADA

As variáveis presentes nos questionários foram analisadas para identificação de fatores de risco utilizando-se como medida de infecção os resultados sorológicos obtidos através do ELISA. A tabela 15 apresenta os valores da “Odds” Relativa encontrada para cada variável analisada, assim como os intervalos de confiança e os valores de p.

As variáveis estudadas foram: sexo; faixa etária (categorizada em menores de 12 meses a 36 meses e animais com idade superior a 36 meses); tipo racial (categorizado em animais sem raça definida, animais mestiços e puros); mesorregião (mesorregiões

Central Mineira, Oeste de Minas e Metropolitana de Belo Horizonte foram agrupadas devido ao pequeno número de ovinos nas duas primeiras e Zona da Mata e Campo das Vertentes agrupadas também devido ao pequeno número de ovinos desta última); presença de aprisco, tipo de piso do aprisco (categorizado em ripado, chão batido, cimentado e misto); presença de gatos, existência de instalação para estocagem de alimentos, acesso de gatos a estas instalações e às baias dos animais, fonte de água, categorizadas em água não exposta (cacimba, poço profundo, poço artesiano, cisterna e água tratada), água exposta (açude, lagoa e nascente), água corrente (córrego e rio) e misto; tipo de bebedouro (vasilhas dentro das instalações, vasilhas fora das instalações, direto da fonte e misto); acesso de gatos a água dos animais, tipo de exploração (leite, carne e misto) e regime de exploração (extensivo, semi-intensivo e intensivo).

A mesma metodologia utilizada para os caprinos foi realizada com os resultados dos soros ovinos. As variáveis selecionadas para a análise multivariada foram as que apresentaram $p < 0,25$ e as que foram consideradas relevantes como fator de risco para infecção por *T. gondii*.

5.2.5.2. ANÁLISE MULTIVARIADA

Foram selecionadas as seguintes variáveis: tipo racial, faixa etária, presença de gatos, presença de instalação para estocagem de alimentos, tipo de fonte de água, tipo de bebedouro e acesso de gatos a água oferecida aos ovinos. As variáveis: tipo de piso, fonte de água, acesso dos gatos a instalações de estocagem de alimentos e regime de exploração embora tenha apresentado um $p < 0,05$ na análise univariada, foram excluídas devido a baixa frequência de resposta nos questionários.

A modelagem foi realizada através da construção de modelos completos do mesmo modo que foi feito com os resultados dos soros caprinos, também utilizando o nível de significância de 0,05 e intervalo de confiança de 95%.

A única variável que permaneceu no modelo final foi a faixa etária dos ovinos. Na tabela 16 pode ser observado que os animais com idade superior a 36 meses têm um risco maior de infecção quando comparados com animais mais jovens.

Tabela 15. Distribuição das variáveis na análise univariada para avaliação dos aspectos soroepidemiológicos da toxoplasmose ovina.

Variáveis	OR	IC – 95%	p
Sexo	0,91	0,60 – 1,37	0,65
Faixa etária	1,39	1,15 – 1,66	0,00
≤ 12 meses a 36 meses			
> 36			
Tipo racial			
SRD	1	-	-
Mestiço	1,88	0,87 – 4,07	0,11
Puro	1,44	0,72 – 2,88	0,30
Mesorregião			
Central Mineira + Metropolitana de BH + Oeste de Minas	1	-	-
Sul/Sudoeste de Minas	2,04	0,88 – 4,73	0,09
Triângulo Mineiro/Alto do Paranaíba	0,78	0,33 – 1,86	0,58
Vale do Rio Doce	0,67	0,27 – 1,62	0,37
Zona da Mata + Campo das Vertentes	0,98	0,42 – 2,26	0,96
Possuir aprisco	1,02	0,56 – 1,88	0,94
Tipo de piso do aprisco			
Ripado	1	-	-
Chão batido	0,48	0,18 – 1,29	0,14
Cimentado	0,30	0,10 – 0,83	0,02
Misto	0,16	0,03 – 0,80	0,03
Presença de gatos	1,54	0,82 – 2,88	0,18
Instalação para estocagem de alimentos	0,68	0,38 – 1,21	0,19
Acesso de gatos a instalações de alimentos	1,66	0,73 – 3,78	0,23
Acesso de gatos a baias dos caprinos	1,25	0,63 – 2,52	0,52
Fonte de água			
Água não exposta	1	-	-
Água exposta	0,91	0,49 – 1,70	0,77
Água corrente	0,46	0,13 – 1,55	0,209
Misto	0,28	0,12 – 0,66	0,00

Tabela 15. Continuação.

Variáveis	OR	IC – 95%	P
Tipo de Bebedouro			
Vasilhas dentro das instalações	1	-	-
Vasilhas fora das instalações	0,72	0,24 – 2,15	0,56
Os animais bebem direto da fonte	0,50	0,22 – 1,12	0,09
Misto	0,61	0,24 – 1,55	0,30
Acesso de gatos a água dos animais	1,52	0,80 – 2,89	0,20
Regime de exploração			
Extensivo	1	-	-
Semi-intensivo	1.09	0.48 – 2.47	0.83
Intensivo	5.20	0.66 – 41.15	0.12
Misto	5.09	0.29 – 87.83	0.26
Ocorrência de aborto na propriedade	0,98	0,89 – 1,06	0,60
Ocorrência de má formação fetal	1,01	0,92 – 1,11	0,78

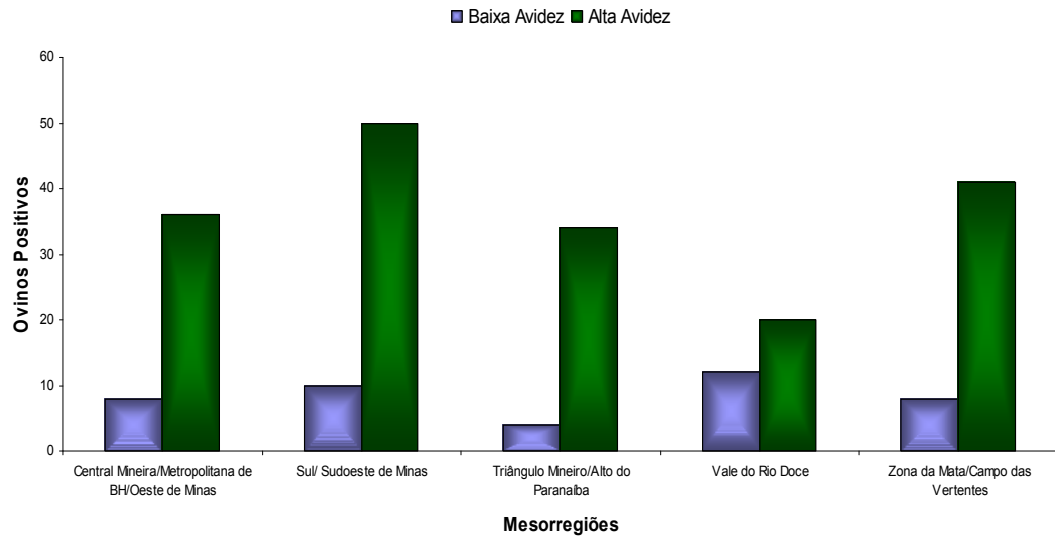
Tabela 16. Fatores de risco para Toxoplasmose Ovina em diferentes mesorregiões de Minas Gerais, 2002.

Variáveis	ODDS RELATIVA BRUTA (IC 95%)	ODDS RELATIVA AJUSTADA (IC 95%)
Faixa etária		
> 36	1,39 (1,15 – 1,66)	1,45 (1,20 – 1,75)

5.2.6. AVIDEZ DE ANTICORPOS IgG ANTI *Toxoplasma gondii* EM OVINOS

Foram submetidos ao ELISA de avidéz o soro dos 221 ovinos que tiveram um IR maior ou igual a 1,0 no ELISA tradicional, sendo encontrado 179 (81,0%) soros com anticorpos IgG de alta avidéz e 42 (19,0 %) possuíam anticorpos IgG de baixa avidéz. Se compararmos com o total de soros ovinos estudados (711), 25,2% dos animais estavam provavelmente na fase crônica da infecção, 5,9% na fase aguda e 68,9% não possuíam imunoglobulinas IgG anti *T. gondii*.

A correlação da avidéz de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* com as variáveis individuais foi calculada utilizando o teste do Qui-quadrado de tendência linear. Sexo, tipo racial e a idade dos ovinos não apresentaram associação significativa. A mesorregião de origem dos animais também não apresentou associação significativa ao nível de 5%, entretanto, encontra-se levemente associada à avidéz de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* pois apresentou $p=0,052$, próximo ao nível de significância (fig. 7).



$p = 0,052$ (Vale do Rio Doce)

Figura 7. Distribuição de ovinos das diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais de acordo com a avidéz (alta e baixa) para anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii*.

6 - DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Caprinos e ovinos assumem um importante papel na cadeia epidemiológica da toxoplasmose sendo esta, uma importante zoonose mundial. A transmissão zoonótica deste protozoário pode acarretar problemas na saúde pública além de perdas reprodutivas e econômicas dos rebanhos. Embora existam trabalhos sobre a prevalência e fatores de risco de toxoplasmose caprina e ovina em vários estados brasileiros, estudos epidemiológicos no Estado de Minas Gerais analisando caprinos são escassos e antigos e ovinos ainda não foram realizados.

6.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO E POPULAÇÃO

Alguns aspectos dos estudos epidemiológicos que devem ser considerados são os vícios ou viés, que são erros sistemáticos introduzidos em qualquer etapa de um estudo seja no delineamento, condução ou na análise. A prevenção e controle dos vícios podem ser realizados em dois momentos: verificação se o delineamento do estudo é apropriado e definição cuidadosa dos procedimentos de coleta e análise dos dados (Pereira, 1995).

Foi realizado um estudo transversal (seccional ou de prevalência) para determinar a prevalência da infecção por toxoplasmose em ovinos e caprinos e identificar de fatores de risco relacionados a infecção. O estudo transversal avalia simultaneamente associação entre os fatores de risco e o efeito (infecção por *T. gondii*), não sendo possível esclarecer a ordem cronológica dos acontecimentos. Um das limitações desta investigação é o viés de temporalidade, que afeta a interpretação dos resultados no

desenho transversal, na medida em que não é possível identificar se os fatores de risco que foram investigados antecedem à infecção.

A seleção das amostras foi realizada a partir do banco de soros do projeto “*Caracterização Sanitária e dos Sistemas de Produção de Ovinos e Caprinos nos Estados do Ceará, Minas Gerais e Rio Grande do Sul*”. O processo de amostragem utilizado na seleção dos animais assegura que aqueles incluídos no estudo apresentam características semelhantes a população de referência, o que garante a validade externa da investigação.

As informações sobre os animais e as propriedades foram obtidas do banco de dados do projeto inicial, e os principais problemas detectados referem-se à ausência de informações em algumas variáveis e erro na digitação dos dados. Através da consulta aos questionários alguns erros foram corrigidos, outros, entretanto, como a ausência de informação, não puderam ser reparados.

O questionário, embora seja um instrumento muito utilizado em estudos epidemiológicos por ser de fácil aplicação, baixo custo e capaz de descrever bem as unidades produtoras e os animais, depende de fatores relacionados aos entrevistadores e entrevistados. É necessário que haja motivação, confiança e habilidade dos envolvidos.

As entrevistas foram realizadas por veterinários do IMA treinados, que contavam com manual de instrução, para evitar possíveis erros na coleta de informações. Entretanto, a perda ou ausência de informações mostrou-se como uma das limitações neste estudo e algumas variáveis foram retiradas das análises devido à baixa frequência. Perguntas

subjetivas ou a falta de dados importantes para a epidemiologia da toxoplasmose, como o número de gatos presentes em cada propriedade foram também problemas detectados neste estudo.

6.2. CAPRINOS

6.2.1. COMPARAÇÃO DOS TESTES: RIFI X ELISA

A detecção de anticorpos através da sorologia é fundamental para o tratamento e controle da toxoplasmose, uma vez que a infecção, tanto no homem como nos animais domésticos e silvestres, pode assumir quadros clínicos facilmente confundidos com várias infecções além da grande maioria ser assintomática (Silva *et al.*, 2002; Figueiredo, 2001).

Um método sorológico para ser utilizado em estudos soropidemiológicos precisa ser econômico, simples, sensível, específico, apresentar boa reprodutibilidade e concordância (Chiari, 1981). Por essas razões, em relação à toxoplasmose animal, a RIFI e ELISA, são as técnicas mais utilizadas na rotina de diagnóstico e em levantamentos (Esteban-Redondo & Innes, 1997; Figueiredo *et al.*, 2001). De acordo com Hashemi-Fesharki (1996) e com Garcia-Vazquez *et al.* (1993) os testes de hemaglutinação e Sabin-Feldman não são muito sensíveis. Chiari *et al.* (1985) demonstraram que a sensibilidade da reação de Sabin-Feldman é menor do que a da RIFI, além desta técnica ter caído em desuso na rotina laboratorial devido, principalmente, à necessidade de manipulação de taquizoítos vivos. Também de acordo

com Chiari *et al.* (1985), a RIFI teve uma maior capacidade de detectar anticorpos tanto em relação à distribuição de títulos positivos e negativos quanto à frequência destes títulos quando comparado com a reação de Sabin-Feldman.

Vários autores ressaltam a importância da RIFI como teste sorológico para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*. Chiari *et al.* (1987) e Serra-Freire *et al.* (1994) descrevem a RIFI como uma reação sensível, específica e reprodutível afastando a possível ocorrência de reações falso positivas entre antígenos tissulares de *T. gondii* e de espécies do *Sarcocystis* ou outros coccídios. A RIFI é, portanto, uma técnica que merece destaque devido à sua alta sensibilidade, já demonstrada nas toxoplasmoses humana, de ovinos, suínos, bovinos entre outros animais. Como desvantagens destacam-se a subjetividade na leitura e a necessidade de equipamentos de alto custo (Cavalcante, 2004).

O ELISA se torna uma boa opção para testes sorológicos por ser uma técnica prática, rápida, sensível e de leitura automatizada, sendo ideal para levantamentos epidemiológicos (Garcia-Vazquez *et al.*, 1993; Silva *et al.*, 2002; Sawadogo *et al.* 2005) além de oferecer informações adicionais sobre a evolução dos níveis de anticorpos específicos da toxoplasmose caprina (Conde *et al.*, 2001).

Neste trabalho foi avaliada a frequência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em caprinos e ovinos de diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais, pelo ELISA, utilizando a RIFI com técnica de referência.

Em relação a RIFI, foram consideradas como amostras positivas, os soros que apresentaram títulos iguais ou superiores a 1:64 na RIFI. Esta diluição aumenta a especificidade da reação, diminuindo assim, a presença de possíveis resultados falsos positivos, sendo utilizada freqüentemente por vários autores (Opel *et al.*, 1991; Sella *et al.*, 1994; Van der Puije *et al.*, 2000; Figueiredo *et al.*, 2001; Figliuolo *et al.*, 2004, Cavalcante, 2004). Apesar de possíveis reações cruzadas, muitos autores utilizam a diluição 1:16 como ponte de corte para a RIFI (Chiari *et al.*, 1985; Chiari *et al.*, 1987; Machado *et al.*, 1987; Serra-Freire *et al.*, 1994; Mainardi *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2003; Uzêda *et al.*, 2004).

A reprodutibilidade do ELISA e da RIFI estudada em 10% da amostra total, mostrou resultados de concordâncias compatíveis com a literatura (Chiari *et al.*, 1985; Silva *et al.*, 2002).

A sensibilidade (85,2%) e especificidade (93,0%) obtidos no ELISA, utilizando como referência a RIFI na diluição 1:64, são similares aos resultados encontrados por Calvalcante (2004) que obtiveram 84,2% de sensibilidade e 95,3% de especificidade em estudo realizado em rebanhos de caprinos do Estado do Ceará. Van der Puije *et al.* (2000), também utilizando a RIFI e o ELISA, observaram 92,0% de sensibilidade e 91,0% de especificidade, em estudo realizado em rebanhos de caprinos em Ghana, África.

A maioria dos autores considera o ELISA mais sensível que a RIFI (Garcia-Vazquez *et al.*, 1993; Conde *et al.*, 2001), entretanto Bahia (1993) e Cavalcante (2002) encontrarem uma maior especificidade para este teste.

A concordância entre os resultados do ELISA e da RIFI foi considerada boa, resultado que corrobora com aqueles de Figueiredo *et al.* (2001) que compararam os resultados obtidos em rebanhos de Uberlândia, MG para as reações de hemaglutinação indireta, a imunofluorescência e o ELISA. Cavalcante (2004) também relata índices satisfatórios de resultados concordantes positivos e negativos entre o ELISA e a RIFI considerando como positivas, reações com título de 1:64. Este autor discute que possíveis diferenças encontradas entre estas reações podem ser explicadas pelo tipo de antígeno utilizado em cada reação (RIFI: parasitos íntegros e ELISA: antígenos solúveis) e pelo tipo de leitura das reações.

6.2.2. DETERMINAÇÃO DA SORO-PREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE CAPRINA NAS REGIÕES CENTRO OESTE SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS

A prevalência encontrada para os caprinos variou de acordo com a técnica utilizada sendo de 46,0% e 43,0% para a RIFI e ELISA, respectivamente. O percentual de soropositividade para *T. gondii* neste trabalho foi superior aos valores encontrados em Sardinia, Itália – 12,3% (Masala *et al.*, 2003), no Iran – 19,2% (Hashemi-Fesharki, 1996), na Bahia – 10,0%(Amaral *et al.*, 1978), 28,9% (Pita-Godim *et al.*, 1999), 16,4% (Uzêda *et al.*, 2004), no México – 3,2% (Garcia- Vazquez *et al.*, 1993) em Londrina – 30,7% (Sella *et al.*, 1994), em São Paulo – 14,5% (Mainardi *et al.*, 2003), 28,7%

(Figliuolo *et al.*, 2004), no Rio de Janeiro – 15,8% (Serra-Freire *et al.*, 1994), em Ghana – 26,8% (Van der Puije *et al.*, 2000), em Uganda – 31,0% (Bisson *et al.*, 2000), na Tailândia – 27,9% (Jittapalapong *et al.*, 2004). Entretanto, são mais próximos daqueles obtidos por Rodríguez-Ponce *et al.* (1995) - Espanha (63,3%) e Silva *et al.* (2003) – Pernambuco (40,4%).

No Estado de Minas Gerais os valores encontrados de soroprevalência da toxoplasmose caprina variam de 19,5% a 92,4% (Figuereido *et al.*, 2001; Chiari *et al.*, 1987; Machado e Lima, 1987). As diferenças encontradas dentro do mesmo Estado podem estar relacionadas com as regiões estudadas, aos tipos de manejos e exploração, às técnicas laboratoriais e aos critérios de positividade estabelecidos em cada estudo.

A presença de anticorpos IgG anti-*T. gondii* nos caprinos de diferentes mesorregiões de Minas Gerais é bastante variável. A taxa de prevalência obtida pelo ELISA foi de 18,8%, 42,2%, 75,0%, 50,9%, 41,2%, 34,3%, 39,7% e 42,8% para as mesorregiões Central Mineira, Metropolitana de Belo Horizonte, Oeste de Minas, Sul/ Sudoeste de Minas, Triângulo Mineiro/ Alto do Paranaíba, Vale do Rio Doce e Zona da Mata, respectivamente.

Apesar de Oeste de Minas e Central Mineira, terem apresentado a maior (75,0%) e a menor (18,8%) taxa de positividade, respectivamente, estas mesorregiões devem ser analisadas com cautela devido ao pequeno número de amostras examinadas. Foram examinados 16 animais em cada uma destas mesorregiões, provenientes de apenas quatro unidades produtoras. Sabe-se que animais de um mesmo rebanho reagem de

maneira homogênea quando são mantidos em condições semelhantes, enquanto a dispersão da toxoplasmose pode variar entre os animais de diferentes procedências (Chiari, 1981).

Entre as outras seis mesorregiões, as taxas de prevalência não variam muito (39,7% a 50,7%) o que demonstra certa homogeneidade entre as regiões Centro Oeste Sul do Estado de Minas Gerais. Gouveia (2001) relata o contraste existente no tipo de criação de caprinos entre as regiões Norte e Nordeste de Minas e as regiões Centro Oeste Sul. No Norte do Estado a caprinocultura é semelhante à nordestina, com animais criados de forma rústica, extensiva e de subsistência principalmente para a produção de leite e carne, enquanto no Sul (regiões Centro Oeste Sul) do Estado os rebanhos são mais tecnificados, voltados principalmente para a produção de leite criados em sistemas de produção semi-intensivos ou intensivos. Infelizmente não foi possível estudar a soroprevalência da toxoplasmose em caprinos das regiões Norte e Nordeste de Minas Gerais.

Além do tipo de manejo e exploração, a temperatura e a precipitação pluviométrica anual das regiões Centro Oeste Sul do Estado de Minas Gerais são também similares. O clima é ameno e semi-úmido que poderia explicar a melhor dispersão da toxoplasmose nos rebanhos caprinos destas regiões. Embora não tenha sido avaliado o clima das mesorregiões, vários estudos demonstram essa relação existente entre fatores ambientais e a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. Umidade e temperatura em torno de 25°C contribuem para a formação de um ambiente favorável à manutenção de oocistos viáveis no solo e estas são as principais formas de transmissão para os herbívoros

(Rodrigues-Ponce *et al.*, 1995; Pita-Godim *et al.*, 1999; Bisson *et al.*, 2000; Van der Puije *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2003; Jittapalapong *et al.*, 2005; Gauss *et al.*, 2006).

Rodrigues-Ponce *et al.* (1995) relatam que áreas com temperaturas baixas possuem menores taxas de prevalência para toxoplasmose. Além disso, esses autores chamam a atenção para o vento como um importante fator de risco por disseminar oocistos. Van der Puije *et al.* (2000) e Pita-Godim *et al.* (1999) discutem a melhor viabilidade de oocisto em áreas úmidas e altas temperaturas quando comparado com regiões frias e secas.

Além de fatores ambientais, características como sexo, idade e tipo racial também podem influenciar as frequências de anticorpos anti-*T. gondii*. Alguns autores sugerem que fêmeas são mais susceptíveis que machos a infecção por *T. gondii*. Van der Puije *et al.* (2000), em estudo sorológico em Ghana, demonstram maior prevalência de toxoplasmose em caprinos fêmea. Jittapalapong *et al.* (2005) também encontra em seu estudo com caprinos da Tailândia, o sexo feminino como fator de risco (OR= 1,49; 95% CI= 1,16 – 1,94). Uzêda *et al.* (2004) discutem que as fêmeas apresentam maior positividade que machos por uma possível imunossupressão relacionada aos eventos de gestação e lactação. Silva *et al.* (2003) discutem o tipo de manejo como relação para a maior positividade em fêmeas, e inferem que o manejo intensivo para a exploração leiteira poderia influenciar no resultado da comparação entre o sexo e a soropositividade.

O rebanho avaliado neste trabalho era constituído por 143 machos, 38,5% positivos pelo ELISA e de 615 fêmeas 43,9% positivas. Estes dados não apresentaram diferença estatística significativa indicando que nas regiões centro oeste sul de Minas Gerais a taxa soropositividade *T. gondii* não está relacionada ao sexo dos caprinos. Este dado corrobora a encontros de Chiari *et al.* (1987), Bisson *et al.* (2000) e por Cavalcante (2004) que também observaram não influencia da variável sexo na proporção de caprinos positivos em estudos realizados em Minas Gerais, Uganda e no Ceará, respectivamente.

A associação entre a positividade dos animais para toxoplasmose e a idade também foi avaliada. Os animais foram divididos em quatro faixas etárias: idade igual ou menor a 12 meses, entre 13 e 24 meses de idade, 25 a 36 meses e animais com idade superior a 36 meses. A faixa etária que apresentou maior número de reações positivas foi aquela superior a 36 meses sem, contudo, haver diferença estatística significativa. Esse resultado concorda com Garcia-Vazquez *et al.* (1993) que também não encontram diferença estatística significativa entre as diferentes faixas etárias estudadas no México. Corrobora também com Uzêda *et al.* (2004) que mesmo sem encontrar diferença estatisticamente significativa, a faixa etária de quatro a seis anos apresentou maior número de reações positivas.

Alguns estudos demonstram que animais mais velhos possuem maior taxa de positividade, pois permanecem um tempo maior expostos aos oocistos de *T. gondii* no ambiente. Machado *et al.* (1987) e Jittapalapong *et al.* (2005) encontraram maior prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em animais com idade igual ou superior a um

ano. Sella *et al.* (1994), Figueiredo *et al.* (2001) e Figliuolo *et al.* (2004) confirmam também que animais adultos possuem maior possibilidade de se infectarem no ambiente. Van Der Puije *et al.* (2000), encontraram positividade em 46,8% entre os animais com idade superior a dois anos. Chiari *et al.* (1987) demonstram que o percentual de caprinos reagentes é maior nos animais adultos, mas os níveis de anticorpos não variam segundo a faixa etária.

Animais com idade superior a sete meses já não possuem anticorpos maternos adquiridos passivamente pelo colostro (Chiari *et al.*, 1986; Figueiredo *et al.*, 2001), portanto se positivos, pelo ELISA ou pela RIFI, provavelmente estes foram imunizados por infecção ativa pelo *T. gondii*.

Durante a coleta do sangue dos animais para a realização deste estudo, algumas propriedades não possuíam o mínimo de animais suficientes, de acordo com a estratificação proposta na metodologia, por isso alguns animais com menos de 6 meses de idade foram incluídos neste estudo. Aproximadamente 3,0% dos animais (23 caprinos) possuíam idade inferior a 6 meses, sendo que destes, apenas 9 foram positivos pelo ELISA e 12 pela RIFI. Como não é possível determinar se a presença destes anticorpos se deve a imunização passiva ou infecção ativa, resolvemos incluí-los neste estudo.

O tipo racial também foi analisado. Os animais foram agrupados em três categorias raciais: puros, mestiços e sem raça definida (SRD). A análise da proporção de animais apresentando anticorpos anti-*T. gondii* mostrou que a prevalência deste protozoário foi

significativamente diferente entre as três categorias raciais analisadas ($p < 0,05$) quando se utiliza o ELISA como teste sorológico. Os animais de raça pura apresentaram maior proporção de positividade para anticorpos anti-*T. gondii* (46,3%) quando comparados aos outros tipos raciais.

Os resultados deste estudo corroboram com Jittapalapong *et al.* (2005) e Borde *et al.* (2006). Jittapalapong *et al.* (2005) levantam a hipótese que caprinos leiteiros têm maior chance de ser infectados com oocistos de *T. gondii* que caprinos de corte devido ao manejo e ao tipo racial exigido para cada um dos dois grupos. A maioria dos animais presentes em rebanhos destinados à produção de leite é de raça pura, portanto mais susceptível à infecção. Borde *et al.* (2006) observam ainda a associação de raças puras com surtos de toxoplasmose.

Van der Puije *et al.* (2000), Uzêda *et al.* (2004) e Cavalcante (2004) não observaram associação significativa entre as raças e a infecção por *T. gondii*. Enquanto Silva *et al.* (2003) encontraram maior taxa de positividade em animais mestiços. Os últimos autores discutem que este comportamento provavelmente se deve ao manejo dado aos animais mestiços com poucos cuidados higiênicos e sanitários das criações.

6.2.3. FATORES DE RISCO PARA TOXOPLASMOSE CAPRINA

Os fatores de risco identificados para a toxoplasmose caprina nas regiões Centro Oeste Sul de Minas Gerais foram: faixa etária, acesso dos gatos a água oferecida aos caprinos, presença de aprisco e tipo racial puro.

Para a interpretação e discussão dos fatores de risco para a toxoplasmose caprina, optou-se pelo modelo em que a presença de aprisco entrava como co-variável sendo excluída a variável tipo racial. As duas variáveis apresentaram alta colinearidade pelo fato da maioria (76,0%) dos animais de tipo racial puro serem criados em apriscos. Nos dois modelos testados os fatores de risco foram semelhantes, validando desta maneira os resultados encontrados.

Essa associação identificada entre a infecção por *T. gondii* e a presença de aprisco pode ser explicada pelo confinamento. Nas propriedades que possuem aprisco os animais estão mais sujeitos ao confinamento, aumentando o risco de contato com o agente infeccioso. O risco de infecção por *T. gondii* está associado à contaminação ambiental com oocistos que podem ser veiculados pela água e alimentos. Portanto, existe relação direta entre proporção de reações positivas e a criação de animais confinados.

Machado & Lima (1987) demonstram em seu trabalho que a frequência da toxoplasmose está associada à forma de exploração dos animais. A exploração extensiva mantém os animais mais dispersos e se torna um importante fator limitante na transmissão de vários agentes infecciosos. Estes autores discutem que a presença de

oocistos de *T. gondii* nas pastagens através de fezes de felídeos e a disseminação de oocistos através da água devem ser os principais mecanismos de contaminação dos ambientes. Chiari (1981) também verifica que o confinamento do rebanho caprino pode constituir um fator predisponente à aquisição da toxoplasmose.

Os resultados encontrados corroboram também com vários autores que associam a exploração de caprinos leiteiros com o tipo racial puro e o conseqüente confinamento. Nas propriedades leiteiras os animais se mantêm mais concentrados e em maior contato com alimentos e água possivelmente contaminados por oocistos, favorecendo assim a transmissão e infecção destes caprinos. A criação de caprinos para corte é normalmente extensiva, diminuindo assim a chance de contaminação (Opel *et al.*, 1991; Silva *et al.*, 2003; Jittapalpong *et al.* 2005 ; Borde *et al.*, 2006).

Outro fator de risco identificado neste estudo foi a idade dos animais. Embora não tenha sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre as quatro faixas etária propostas, os animais mais velhos apresentaram maior número de reações positivas. Baseando-se no trabalho de Cavalcante (2004) onde animais com idade superior a 36 meses têm o risco de 4,54 vezes maior (IC 95% 1,02 - 1,05) de estarem infectados quando comparados com os mais novos, e no trabalho de Figueiredo *et al.* (2001) que também observam taxas maiores de positividade em animais com idade superior a 36 meses, os animais foram reagrupados em duas categorias: menores de 36 meses e animais com idade superior a 36 meses. Assim foi identificada associação entre a infecção e a idade dos animais. Caprinos com idade superior a 36 têm 1,24 (IC 95% 1,02 – 1,44) vezes mais chance de estarem infectados, quando comparados com os mais

novos. Estes resultados corroboram com vários autores que também identificaram maiores taxas de infecção em animais mais velhos (Machado *et al.*, 1987; Chiari *et al.*, 1987; Sella *et al.*, 1994; Van Der Puije *et al.*, 2000; Figueiredo *et al.*, 2001; Cavalcante, 2004; Figliuolo *et al.*, 2004; Jittapalapong *et al.*, 2005). Como já discutido anteriormente, a idade mais avançada se torna um fator de risco pelo fato de animais adultos terem maiores chances de contato com oocistos de *T. gondii* no ambiente.

Sabe-se que o contato de gatos domésticos com os caprinos é um fator relevante na transmissão e na infecção por *T. gondii* devido à eliminação dos oocistos nomeio ambiente (Chiari *et al.*, 1995). Os Felídeos são importantes para a toxoplasmose humana, mas os caprinos podem ser o elo desta cadeia de transmissão veiculando cistos ou taquizoítos em carne e leite (Chiari *et al.*, 1997; Rodriguez-Ponce *et al.*, 1995; Jittapalapong *et al.*, 2005). Visto que os gatos ao defecarem podem estar eliminando oocistos contaminando o ambiente, são de relevante importância perguntas sobre felídeos em um questionário elaborado para um estudo sobre epidemiologia da toxoplasmose.

Em relação a variável: acesso de gatos a água oferecida aos caprinos, foi encontrado OR de 0,37 (IC 95% 0,19 – 0,71). Esse resultado indica uma menor chance de infecção de animais que bebem água em que gatos têm acesso. Esse resultado contraditório, aparentemente reflete uma falha na elaboração das perguntas do questionário sobre os felídeos das unidades produtoras. Perguntas qualitativas e não quantitativas foram realizadas. Foi perguntado, por exemplo, sobre a presença de gatos nas propriedades, mas não o número de gatos existentes. Cavalcante (2004) demonstra que a

probabilidade de infecção dos caprinos no Ceará é mais elevada em unidades produtoras que possuíam mais de 30 gatos (OR= 2,04). Sendo assim, a variável: acesso de gatos a água oferecida aos caprinos, presente neste estudo deve ser avaliada com cautela.

6.2.4. DETERMINAÇÃO DA AVIDEZ DE ANTICORPOS IGG ANTI *T. GONDII* EM CAPRINOS

Várias metodologias são utilizadas para distinguir infecções agudas e infecções crônicas da toxoplasmose. A presença de IgM no soro caprino (Figueiredo *et al.*, 2001; Massala *et al.*, 2003) e a associação de altos títulos dos soros à fase aguda da infecção (Borde *et al.* 2000) são algumas destas metodologias empregadas. Bahia (1993) e Figliuolo *et al.* (2004) discutem que a simples presença de altos títulos de anticorpos em soros caprinos não é suficiente para a associação com a fase clínica da infecção nem para a confirmação da fase aguda nos animais, pois os títulos podem permanecer altos por longo período.

A determinação da avidéz de anticorpos IgG anti-*T. gondii* pode ser utilizada como marcador de infecção recente na toxoplasmose caprina (Bahia, 1993; Cavalcante, 2004), em suínos (Suarez-Aranda *et al.*, 2000) e em humanos (Cozon *et al.*, 1998).

No presente trabalho, 73,2% dos animais positivos pelo ELISA possuíam anticorpo IgG de alta avidéz e 26,8% anticorpo de baixa avidéz. De acordo com a avaliação da avidéz de anticorpos IgG anti-*T. gondii*, a maioria dos animais estudados provavelmente está na fase crônica da doença. Bahia (1993) relata que a porcentagem de queda da

absorbância decresce com o tempo de infecção do animal, tornando-se estável aproximadamente no 100º dia de infecção. Visto isto, a maioria dos caprinos provenientes das regiões centro oeste sul do Estado de Minas Gerais provavelmente possuem um tempo de infecção superior a 100 dias.

Não foi encontrada associação da avidéz de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* com as variáveis individuais dos animais como sexo, tipo racial e idade. Esse resultado é semelhante aos de Cavalcante (2004). Acreditamos que independente do sexo, tipo racial e idade, os animais encontram-se expostos aos mesmos fatores de risco no estado de Minas Gerais.

A associação estatisticamente significativa entre a sorologia positiva e a mesorregião de origem dos caprinos, pode sugerir a presença de possíveis surtos em algumas propriedades amostradas neste estudo. É importante ressaltar que a ocorrência de fase aguda de toxoplasmose em fêmeas em idade reprodutiva pode proporcionar a transmissão vertical do parasito, com possibilidade de baixos índices de produtividade nos rebanhos.

6.3. OVINOS

6.3.1. COMPARAÇÃO DOS TESTES: RIFI X ELISA

A utilização de ELISA e RIFI como testes sorológicos são boas opções para levantamentos epidemiológicos da toxoplasmose ovina graças à praticidade, sensibilidade e especificidade destas técnicas (Esteban-Redondo e Innes, 1997; Sawadogo *et al.*, 2005).

Neste trabalho o teste do ELISA foi padronizado e mostrou boa reprodutibilidade. Em relação à RIFI, avaliou-se as duas diluições do soro mais comumente utilizada para atribuição da positividade: 1:16 (Gorman *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2003) e 1:64 (Van der Puije *et al.*, 2000; Figliuolo *et al.*, 2004). Para a definição do melhor diluição discriminante para a RIFI utilizou-se aquele que demonstrou maior reprodutibilidade em 10% da amostra, bem como a melhor concordância com o ELISA. Portanto foram considerados como amostras positivas, os soros que apresentaram títulos iguais ou maiores a 1:64.

A sensibilidade (68,4%) e especificidade (97,3%) do ELISA, tendo como referência a RIFI na diluição 1:64, são similares aos resultados encontrados por Van der Puije *et al.* (2000) que também utilizaram a RIFI e o ELISA em um estudo de prevalência realizado em rebanhos de ovinos em Ghana, África.

Como ocorreu para o estudo de caprinos, o ELISA realizado em soros ovinos se mostrou mais específico que sensível. Pouco é discutido na literatura sobre sensibilidade e especificidade de técnicas para o diagnóstico de ovinos. Gorman *et al.* (1999) ao comparar Hemaglutinação Indireta com RIFI em um estudo realizado com ovinos do Chile, encontram 42,1% e 99,6% de sensibilidade e especificidade, respectivamente. Hashemi-Fesharki (1996) encontram resultados semelhantes no Irã.

A concordância observada neste estudo entre a RIFI (1:64) e o ELISA foi considerada boa. Pereira-Bueno *et al.* (2004) encontraram uma perfeita concordância entre o ELISA e a RIFI (Kappa=1,00) em estudo realizado com ovinos na Espanha. A boa concordância encontrada neste trabalho permite indicar o ELISA como técnica adequada para o diagnóstico da toxoplasmose ovina.

6.3.2. DETERMINAÇÃO DA SORO-PREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE OVINA NAS REGIÕES CENTRO OESTE SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS

A prevalência para a toxoplasmose encontrada no soro de ovinos variou de acordo com a técnica utilizada sendo de 43,0% e 31,0% para a RIFI e ELISA, respectivamente. Esses valores estão próximos à média mundial que é estimada em 31,0% por Fayer (1982) (*apud* Sawadogo *et al.*, 2005). São próximos também aos valores encontrados em Uruguaiana – 39,0% (Larsson *et al.*, 1980), no Uruguai – 38,4% (Freyre *et al.*, 1999), em Ghana – 33,2% (Van der Puije *et al.*, 2000), Pernambuco – 35,3% (Silva *et al.*, 2003) e em São Paulo – 34,7% (Figliuolo *et al.*, 2004). Entretanto foram superiores aos valores encontrados na Noruega – 16,2% (Skjerve *et al.*, 1998), no Rio Grande do

Sul – 23,0% (Amaral *et al.*, 1978), na Bahia - 18,7% (Pita-Godim *et al.*, 1999), no Iran – 24,5% (Hashemi-Fesharki, 1996), em Sardinia – 28,4% (Masala *et al.*, 2003), no Chile – 28,0% (Gorman *et al.*, 1999) e em Marrocos – 27,6% (Sawadogo *et al.*, 2005). Valores maiores que o encontrado neste estudo foram observados em São Paulo – 55,1% (Langoni *et al.*, 1999) e na Sérbia – 84,5% (Klun *et al.*, 2005).

Em relação às diferentes mesorregiões de Minas Gerais a soroprevalência variou de 11,1% a 44,5%. A taxa de prevalência pelo ELISA observada foi de 11,1%, 18,2%, 31,6%, 38,7%, 44,5%, 25,7%, 23,3%, 32,4% e 31,1% para as mesorregiões Campo das Vertentes, Central Mineira, Metropolitana de Belo Horizonte, Oeste de Minas, Sul/Sudoeste de Minas, Triângulo Mineiro/ Alto do Paranaíba, Vale do Rio Doce e Zona da Mata respectivamente.

Duas mesorregiões (Campo das Vertentes e Central Mineira) tiveram um grupo amostral pequeno. Foram avaliadas poucas propriedades de cada uma dessas mesorregiões (3 e 2 rebanhos, respectivamente). Como animais pertencentes aos mesmos rebanhos demonstram uma homogeneidade que pode não refletir de maneira correta a real situação destas mesorregiões.

Entre as outras sete mesorregiões, as taxas de prevalência não variam muito (23,3% a 44,5%), resultado que corrobora com a sorologia realizada em caprinos, demonstrando mais uma vez, certa homogeneidade entre as regiões centro oeste sul do Estado de Minas Gerais.

Como citado anteriormente para caprinos, a variação climática entre as mesorregiões não foi avaliada, entretanto, fatores ambientais são importantes também para a epidemiologia da toxoplasmose ovina. Regiões úmidas e quentes são favoráveis ao desenvolvimento e aumento da viabilidade dos oocistos, em contrapartida, regiões de clima seco normalmente apresentam baixos índices de prevalências (Pita-Godim *et al.*, 1999; Van der Puije *et al.*, 2000; Sawadogo *et al.*, 2005; Klun *et al.*, 2005; Gauss *et al.*, 2006).

Não foi encontrada relação entre o sexo dos ovinos e o índice de positividade para toxoplasmose, dado que corrobora com Gorman *et al.*, 1999. No presente estudo, 31,5% e 30,3% das fêmeas e dos machos, respectivamente foram positivas pelo ELISA. Como ocorre em caprinos, alguns autores apontam o sexo feminino como um fator de risco para a toxoplasmose devido a diferenças hormonais, fisiológicas e de manejo (Van der Puije *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2003).

Foi encontrada diferença significativa entre a infecção por *T. gondii* e a idade dos animais. Animais com idade superior a 36 meses tiveram uma maior taxa de prevalência quando comparados aos ovinos das outras três faixas etárias. Nossos resultados corroboram com Esteban-Redondo e Innes, (1997), Skjerve *et al.*, (1998), Gorman *et al.*, (1999), Van der Puije *et al.*, (2000), Figliuolo *et al.*, (2004). Esta diferença se deve a um maior tempo de exposição dos ovinos aos oocistos esporulados de *T. gondii* no ambiente.

Também no estudo da toxoplasmose em ovinos, algumas propriedades amostradas não possuíam animais suficientes de acordo com a estratificação proposta na metodologia, por isso, alguns animais com menos de 6 meses de idade foram incluídos neste estudo. Aproximadamente 3,38% dos animais (24 ovinos) possuíam idade inferior a 6 meses, sendo que destes apenas 7 foram considerados positivos, tanto pelo ELISA quanto pela RIFI. Como não é possível determinar se a presença destes anticorpos se deve a imunização ativa ou passiva, resolvemos incluí-los neste estudo.

Skjerve *et al.* (1998) observam que ovinos com idade superior a três meses não possuem mais anticorpos maternos circulantes adquiridos passivamente pelo colostro, sendo que sorologias positivas nesses animais indicam exposição ao *T. gondii* depois do nascimento.

A associação entre a positividade dos ovinos para toxoplasmose e o tipo racial também foi avaliada. A análise da proporção de animais apresentando anticorpos anti-*T. gondii* mostrou não haver diferença estatisticamente significativa entre as três categorias raciais analisadas (puro, mestiço e SRD). Nossos resultados corroboram com Van der Puije *et al.* (2000) que em seu trabalho realizado com ovinos de Ghana também não observaram diferença significativa entre as raças estudadas e a infecção por *T. gondii*. Entretanto, Silva *et al.* (2003) em estudo soropidemiológico no Estado de Pernambuco, encontraram maiores taxas de infecção em animais mestiços, podendo este comportamento ser devido ao menor cuidado no manejo higiênico-sanitário das criações de animais mestiços.

6.3.3. FATORES DE RISCO PARA TOXOPLASMOSE OVINA

O único fator de risco identificado para a toxoplasmose ovina nas regiões Centro Oeste Sul de Minas Gerais foi a faixa etária.

Apesar de termos encontrado uma diferença estatisticamente significativa entre as quatro faixas etária propostas inicialmente, para a análise multivariada decidimos reagrupar os animais em duas categorias: menores de a 36 meses e animais com idade superior a 36 meses seguindo os mesmos critérios utilizados para os caprinos. Ovinos com idade superior a 36 meses tiveram risco 1,45 maior de estarem infectados, quando comparados aos mais novos (IC 95% 1,20 – 1,74). Esse resultado corrobora com vários autores que encontraram associação entre a idade e a soropositividade do ovinos (Esteban-Redondo e Innes, 1997; Skjerve *et al.*, 1998; Gorman *et al.*, 1999; Van der Puije *et al.*, 2000; Figliuolo *et al.*, 2004). Esta relação pode ser explicada pela maior exposição dos ovinos mais velhos aos oocistos presentes no ambiente, aumentando assim a chance de infecção destes pequenos ruminantes por *T. gondii*.

Apesar de não terem sido encontrados outros fatores de risco no presente estudo, na literatura estão descritas outras variáveis importantes como confinamento (Skjerve *et al.*, 1998; Silva *et al.* 2003; Klun *et al.* 2005), manejo (Skjerve *et al.*, 1998; Van der Puije *et al.*, 2000) e localização do rebanho (Amaral *et al.*, 1978; Skjerve *et al.*, 1998; Pita-Godim *et al.*, 1999; Van der Puije *et al.*, 2000; Silva *et al.* 2003; Sawadogo *et al.*, 2005).

Tanto para ovinos quanto para caprinos não foi encontrada uma associação estatisticamente significativo entre as taxas de prevalência para toxoplasmose e a ocorrência de problemas reprodutivos (abortos e má formação fetal). Essa ausência de associação pode ser explicada pela falta de um estudo aprofundado das causas e problemas da infertilidade e perdas reprodutivas nos rebanhos para as duas espécies.

6.3.4. DETERMINAÇÃO DA AVIDEZ DE ANTICORPOS IGG ANTI *Toxoplasma gondii*

EM OVINOS

A determinação da avidéz de anticorpos IgG anti-*T. gondii* também pode ser utilizada como marcador de infecção recente em ovinos. No presente trabalho 81,0% dos animais positivos possuíam anticorpos IgG de alta avidéz e 19,0% anticorpos de baixa avidéz. De acordo com a avaliação da avidéz de anticorpos IgG anti-*T. gondii* e corroborando com os resultados encontrados em soros de caprinos, a maioria dos ovinos estudados provavelmente está na fase crônica da doença.

Poucos relatos existem na literatura sobre metodologias utilizadas para distinguir infecções agudas e infecções crônicas da toxoplasmose ovina. Figliuolo *et al.* (2004) relatam que 36,2% dos ovinos estudados em São Paulo estão provavelmente na fase aguda da infecção por apresentarem títulos sorológicos superiores a 1:1024. O mesmo tipo de raciocínio é utilizado por Klun *et al.* (2005) que sugerem que aproximadamente 10% dos ovinos avaliados na Sérvia estão na fase aguda, pois apresentam anticorpos IgG específicos com títulos iguais ou superiores a 1:1600.

A correlação da avidéz de anticorpos IgG anti-*T. gondii* com as variáveis individuais dos animais foi avaliada não sendo encontrada nenhuma associação com sexo, tipo racial e idade dos ovinos. Esse resultado corrobora com os resultados encontrados neste estudo para os caprinos podendo ser explicado também pelo fato de todos animais encontrarem-se expostos aos mesmos fatores de risco no estado de Minas Gerais.

Foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre anticorpos de baixa avidéz e mesorregião. Como já discutido anteriormente, possíveis surtos em algumas propriedades amostradas neste estudo devem ter ocorrido na época da coleta dos soros, em 2002, justificando diferenças encontradas na proporção de animais em fase aguda e crônica nas diferentes mesorregiões estudadas.

Esta hipótese poderá ser confirmada em futuros trabalhos, identificando os rebanhos com alta frequência de anticorpos IgG de baixa avidéz através de estudos epidemiológicos mais amplos: sorologia seriada dos ruminantes e felídeos, questionários sobre perdas reprodutivas e exames de fezes de felídeos.

É importante ressaltar que infecções intercorrentes e o estado nutricional de caprinos e ovinos não foram avaliadas neste estudo. A presença de outras infecções pode diminuir a resistência do hospedeiro predispondo-o à aquisição da toxoplasmose (Chiari 1981). Não foram testadas amostras de tecidos para a avaliação da viabilidade dos cistos teciduais, entretanto alguns autores evidenciam uma boa correlação entre os títulos de anticorpos e a presença de cistos viáveis (Skjerve *et al.*, 1998).

7 - CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

- O ELISA por ser um teste sorológico de fácil execução, prático, específico, reprodutível e de leitura automatizada pode ser utilizado para levantamentos soropidemiológicos da toxoplasmose caprina e ovina.

- Caprinos e ovinos das regiões Centro Oeste e Sul do Estado de Minas Gerais apresentam alta prevalência da toxoplasmose.

- Os fatores de riscos associados à infecção pelo *T. gondii* em caprinos foram: idade superior a 36 meses, presença de aprisco e tipo racial puro.

- O fator de risco observado para infecção pelo *T. gondii* em ovinos foi a idade superior a 36 meses.

- A ocorrência de animais com anticorpos IgG anti-*T. gondii* de baixa avidéz nos rebanhos analisados sugerem a presença de caprinos e ovinos em fase recente da toxoplasmose nas regiões Centro Oeste e Sul do Estado de Minas Gerais.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; NAVARRO, I.T.; BARBOSA, C.S. Avaliação de aglutininas anti-toxoplasma em soros de caprinos de cinco centros de criação do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, n.2, p.75-77, 1997.

AMARAL, V.; SANTOS,S.M; REBOUÇAS, M.M. Sobre a prevalência de anticorpos anti-toxoplasma em soros de caprinos e ovinos procedentes, respectivamente dos Estados da Bahia e Rio Grande do Sul, Brasil. **O Biológico**, v.45, p.331-340,1978.

ARAÚJO, F.A.P. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de caprinos da região da Grande Porto Alegre/RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.12, p.25-34,1984.

ARAMINI, J.J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J.P.; ENGELSTOFT, C.; SCHWANTJE, H.; RIBBLE, C.S. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Epidemiology and Infection**,. v.122, p.305-315, 1999.

ARCHER, J. F.; BEVERLEY, J. K. A.; WATSON, W. A. A Field Trial of the Fluorescence Antibody Test for Toxoplasmosis in the Diagnosis of Ovine Abortion. **The Veterinary Record**, v.88, p.206-208, 1971a.

ARCHER, J. F.; WATSON, W. A.; HUNTER, D. Further Field Studies on the Fluorescence Antibody Test in the Diagnosis of Ovine Abortion Due to Toxoplasmosis. **The Veterinary Record**, v.88, p.178-180, 1971b.

BAHIA, M. T.; VITOR, R.W.A.; CALDAS, , R.P.; ANTUNES, C.M.F.; CHIARI, C. Diagnosis of caprine toxoplasmosis by a dot enzyme-linked immunosorbent assay. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.45, p.173-182, 1993.

BAHIA, M. T. **Avaliação da sorologia para o diagnóstico epidemiológico da toxoplasmose caprina**. Belo Horizonte:UFMG, 1993, 215 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, BH.

BAHIA, M.T.; VITOR, R.W.A.; CALDAS, R.P.; ANTUNES, C.M.F.; CHIARI, C. de A. Avidéz de anticorpos específicos anti-*Toxoplasma* da classe IgG e sua utilização na diferenciação entre toxoplasmose recente e crônica em caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.32, p.11-16,1995.

BARI, A. S. M.; YEASMIN F.; ALAM, M. G. S. Pathology of naturally occurring *Toxoplasma* abortion and neonatal mortality in Black Bengal goat. **Small Ruminant Research**, v.10, p.349-355, 1993.

BHOPALE, G. M. Pathogenesis of toxoplasmosis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.26, p.213-222, 2003.

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

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

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

CARRUTHERS, V. B. Host cell invasion by the opportunistic *pathogen Toxoplasma gondii*. **Acta Tropica**, v.81, p.111-122, 2002.

CHIARI, C. A. **Soro epidemiologia da Toxoplasmose caprina**. Belo Horizonte: UFMG, 1981. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

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

CHIARI, C.A.; LIMA, J.D.; LIMA, W. dos S.; ANTUNES, C.M.F. Reações de Imunofluorescência Indireta e de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, p.587-600, 1985.

CHIARI, C.A.; LIMA, J.D.; LIMA, W. dos S. Anticorpos Circulantes em Caprinos Naturalmente Infectados pelo *Toxoplasma gondii*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.38, p.889-898, 1986.

CHIARI, C.A.; LIMA, J.D.; LIMA, W. dos S.; ANTUNES, C.M. de F. Soro-Epidemiologia da Toxoplasmose Caprina em Minas Gerais , Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, p. 587-600, 1987.

CONDE M., MOLINA CABALLERO, J.M.; RODRÍGUEZ-PONCE E.; RUIZ A.; GONZÁLEZ J. Analysis of IgG response to experimental infection with RH *Toxoplasma gondii* in goats. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.24, p.197 – 206, 2001.

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 Infection Disease**. v.17, p.32-36, 1998.

DEAN, A. G.; DEAN, J. A. BURTON, A. H.; DICKER, R. C. **Epi info, version 3.3 : A word processing, database and statistic program for epidemiology on micro-computers**. Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, 2004.

DUBEY, J.P.; WILLIAMS J.F.; WEISBRODE S.E. Caprine Toxoplasmosis: Abortion, Clinical Signs, and Distribution of *Toxoplasma* in Tissues of Goats Fed *Toxoplasma gondii* Oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v.41, p.1072-1076, 1980.

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

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

DUBEY, J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v.64, p.65-70, 1996.

DUBEY, J.P. Advances in the cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.267-299, 1998.

DUNCANSON, R. S.; TERRY, J. E.; SMITH, G. H. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. **International Journal for Parasitology**, v.31, p.1699-1703, 2001.

EL-MOUKDAD, A.R. Serological studies on prevalence of *Toxoplasma gondii* in Awassi sheep in Syria. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**. v.115, p.186-188, 2002.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (Sobral, Ce). II Plano Diretor da Embrapa Caprinos. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 36p.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E. A. *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.20, p.191-196, 1997.

FIGUEIREIDO, J.F.; SILVA, A.O.; CABRAL, D.D.; MINEO, J. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Goats by the Indirect

Haemagglutination, Immunofluorescence and Immunoenzymatic Test in the Region of Uberlândia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p.687-692, 2001.

FIGUEIREDO, EAP. Perspectiva da produção de caprinos nas próximas décadas na América Latina: produção animal no século 21. Piracicaba: Fealq, 1990, 170p.

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

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A.M.A.; V.S.O. DE PAULA; R.A. DIAS; S.L.P. SOUZA; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, p. 161-166, 2004.

FILISSETTI D.; CANDOLFI E. Immune response to *Toxoplasma gondii*. **Annali dell' Instituto Superior di Sanità**, v.40, p.71-80, 2004.

FREYRE, A.; BONINO, J.; FALCÓN, J., CASTELLS, D.; CORREA, O.; CASARETTO, A. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v.81, p.85-88, 1999.

GARCIA-VAZQUEZ, Z.; ROSARIO-CRUZ, R., DIAZ-GARCIA, G.; HERNANDEZ-BAUMGARTEN, O. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, swine and goats in four Mexican states. **Preventive Veterinary Medicine**, v.17, p.127-132, 1993.

GAUSS, C. B. L.; DUBEY, J. P.; VIDAL, D.; CABEZÓN, O.; RUIZ-FONS, F.; VICENTE, J.; MARCO, I.; LAVIN, S.; GORTAZAR, C.; ALMERÍA, S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in red deer (*Cervus elaphus*) and other wild ruminants from Spain. **Veterinary Parasitology**, v.136, p.193-200, 2006.

GAZÊTA, G.S.; DUTRA A.E.A.; NORBERG A.N., SERRA-FREIRE N.M., SOUZA, W.J.S.; AMORIM M.; LOPES, L.M.S. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.6, p.87 – 91, 1997.

GORMAN, T.; ARANCIBIA, J. P.; LORCA, M.; HIRD, D.; ALCAINO, H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (*Llama pacos*) in Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v.40, p.143-149, 1999.

GOUVEIA, AMG. **Características zoonosológicas da caprinovinocultura em Minas Gerais**: Documento Final. EV-UFMG, IMA-DFAMG, GEPPR-NPSA, 2001. 57p.

GROSS, U.; HOLPERT, M.; GOEBEL, S. Impact of stage differentiation on diagnosis of toxoplasmosis. **Annali dell'istituto Superior di Sanità**, v.40, p.65-70, 2004.

GUIMARÃES, AS. **Caracterização da Caprinovinocultura em Minas Gerais**. Belo Horizonte: UFMG, 2006, 72p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, BH.

GUIMARÃES FILHO, C.; SOARES, JGG.; ARAÚJO, GGL. **Sistemas de produção de carnes caprina e ovina no semi-árido nordestino**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1, 2000, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: EMEPA, 2000. 266p.

HASHEMI-FESHARKI, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. **Veterinary Parasitology**, v.61, p.1-3, 1996.

HEJLÍČEK, K.; LITERÁK, I. Incidence and prevalence of toxoplasmosis among sheep and goats in southern and western Bohemia. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.63, p.151-159, 1994.

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

IBGE. Censo Agropecuário 1995-1996. Rio de Janeiro: 1999, 1p. <http://www.sidra.ibge.gov.br/>.

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária. *Caprinocultura em Minas Gerais*. IMA: Belo Horizonte, 1998. 14p.

JITTAPALAPONG, S.; SANGVARANOND, A.; PINYOPANUWAT, N.; CHIMNOI, W.; KHACHAERM, W.; KOIZUMI, S., MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v.127,,p.17-22, 2005.

KLUN, I.; DJURKOVIC-DJAKOVIC, O.; KATIC-RADIVOJEVIC, S.; NIKOLIC, A. Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. **Veterinary Parasitology**, 2005.

LANGONI, H., SILVA, A. V.; ROSA, C.; MARINHO, M. Inquérito soroepidemiológico para toxoplasmose em ovinos do estado de São Paulo Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.61, p.35 - 39, 1999.

LARSSON, C.E.; JAMRA, L.M.F.; GUIMARÃES, E.C. Prevalência da toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de

Uruguaiana, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.14, p.582-588, 1980.

LAURITSEN, J. M.; BRUUS, M.; MYATT, M.A. *EpiData, version 2.1 An extended tool for validated entry and documentation of data*. The EpiData Association, Odense Denmark, 2001.

LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E.G.; PAGE, F.C; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J. E WALLACE, F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, v.27, p.37-58, 1980.

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

MAGALHÃES, H.H.; GOUVEIA, A.M.G.; CAPISTRANO, C.M.B. Diagnóstico de situação da caprinocultura em algumas microregiões dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro – Resultados Preliminares. **Cabra & Bodes**, v.1, p.5-7. 1985.

MAIA, M. S.; MACIEL, F. C.; LIMA, G. F. Produção de caprinos e ovinos: recomendações básicas de manejo. Natal: **EMPARN/SEBRAE**, 1997.

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

MASALA, G.; PORCU, R.; MADAU, L.; TANDA, A. IBBA, B.; SATTA, G.; TOLA, S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**. v.117, p. 15-21, 2003.

MORAND-FEHR, P.; BOYAZOGLU, J. Present state and future outlook of the small ruminant sector. **Small Ruminant Research**. v.34, p.175-188, 1999.

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

OLIVEIRA, A. A. P.; LIMA, V. P. M. S. **Aspectos econômicos da caprinovinocultura tropical brasileira**. 1. Anais Sobral. Embrapa CNPC, 1994.

PEREIRA, M.G. **Epidemiologia – Teoria e Prática**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 1995. p.583.

PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M. Evaluation of ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by different diagnostic techniques. **Veterinary Parasitology**, v.121, p. 33-43, 2004.

PINHEIRO, R. R. GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F.S. A.; HADDAD, J.P. A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, v.52, p.534-543,2000.

PITA-GONDIM, L. F.; BARBOSA, H. V.; RIBEIRO FILHO, C. H. A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goat, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brasil. **Veterinary Parasitology**, v.82, p.273-276, 1999.

RAJASEKARIAH, G. H. R.; RYAN, J. R.; HILLER, R. S.; Yi, L. P.; STITELER, J. M.; CUI, L.; SMITHYAMAM, A. M.; MARTIN, S. K. Optimisation of an ELISA for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis using in vitro derived promastigote antigens. **Journal of Immunological Methods**, v.252, p.105-119, 2001.

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

SAGER H., GLOOR M., TENTER A. MALEY S., HÄSSING M., GOTTSTEIN B. Immunodiagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in sheep by the use of a P30 IgG avidity ELISA. **Parasitology Research**, v.91, p. 171-174, 2003.

SAWADOGO, P.; HAFID, J.; BELLETE, B.; TRAN MANH SUNG, R.; CHAKDI, M.; FLORI, P.; RABERIN, H.; BENT HAMOUNI, I.; CHAIT, A.; DALAL, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.89 – 92, 2005.

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

SERRA-FREIRE, da N.M.; NORBERG, A.N.; GAZETA, G.S. Toxoplasmose caprina no Rio de Janeiro. **Parasitologia al Día**, v.18, p.77-81, 1994.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A.A.; LANGONI, H. Comparação da Reação de Imunofluorescência Indireta e do Método de Aglutinação Direta na detecção de

anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.69, p.7 – 11, 2002.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCALK, S.; MOTA, R. A.; LANGONI, H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudos soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v.33, p.115-119, 2003.

SKJERVE, E.; WALDELAND, H.; NESBAKKEN, T. KAPPERUD, G. Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. **Preventive Veterinary Medicine**, v.35, p.219-227, 1998.

STATA CORP. Stata Statistical Software: Release 9.0. College Station, Texas, Corporation, 2005.

SUARÉZ-ARANDA, F.; GALISTEO Jr. A. J.; HIRAMOTO, R.M.; CARDOSO, R. P. A.; MEIRELES, L. R.; MIGUEL, °; ANDRADE Jr. H. F. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru, **Veterinary Parasitology**, v.91, p. 23-32, 2000.

SZEREDI, L.; BACSADI, Á. Detection of *Chlamydia abortus* and *Toxoplasma gondii* in Smears from Cases of Ovine and Caprine Abortion by the Streptavidin-Biotin Method, **Journal of Comparative Pathology**, v.127, p.257-263, 2002.

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

UZÊDA, R.S.; FERNANDEZ, S.Y.; JESUS, E.E.V.; PINHEIRO, A.M.; AYRES, M.C.C.; SPINOLA, S.; BARBOSA JUNIOR, H.V.; ALMEIDA, M.A.O. Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.5, p. 1-8, 2004.

VAN DER PUIJE, W. N. A.; BOSOMPEN, K. M.; CANACOO, E. A.; WASTLING, J. M.; AKANMORI, B. D. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. **Acta Tropica**, v.76, p.21-26, 2000.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: Epidemiologia e Importância da Doença na Saúde Animal. **Semina. Ciências Agrárias**, v.13, p.69-75, 1992.

VITOR, R.W.A.; LIMA, PINTO, J.B.; CHIARI, C.A. Eliminação de *Toxoplasma gondii* através de urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.43, p.147-54. 1991.

VITOR, R.W.A. **Infecção experimental de caprinos pelo *Toxoplasma gondii***. Belo Horizonte:UFMG, 1992, 176f.. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1992.

VITOR, R.W.A.; LIMA, J.D.; TAFURI, W.L.; FERNANDES, M.A.; BAHIA, M.; CHIARI, C.A. Toxoplasmose experimental em cabras gestantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.44, n.6, p. 501-12, 1992.

VITOR, R. W. A.; FERREIRA, A.M.; FUX, B. Antibody response in goats experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**. v.81, p.259-263. 1999.

WEISSMANN J., Presumptive *Toxoplasma gondii* abortion in a sheep. **Canadian Veterinary Journal**, v.44, 2003.

YORINORI, E.H. **Características dos sistemas de produção de pequenos ruminantes e prevalências da artrite-encefalite caprina (CAE) e Maedi-Visna (MV) ovina, nas regiões norte e nordeste de Minas Gerais, 2000**. Belo Horizonte: UFMG - Escola de Veterinária, 2001. Tese (Mestrado).

