

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* em felinos e suínos do Estado da Paraíba,
Brasil

THAIS FERREIRA FEITOSA

PATOS-PB
2013



CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL – CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

***Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em felinos e suínos do Estado da Paraíba,
Brasil**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Campina
Grande – UFCG em cumprimento
ao requisito necessário para a
obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária.

THAIS FERREIRA FEITOSA

Prof^a. Dr^a. Ana Célia Rodrigues Athayde

Orientadora

PATOS-PB

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados de Acordo com AACR2, CDU E CUTTER

Biblioteca Setorial - CSTR/UFCG – Campos de Patos-PB

F 311t

2013

Feitosa, Thais Ferreira

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* em felinos e suínos do Estado da Paraíba, Brasil / Thais Ferreira Feitosa . - Patos: CSTR/PPGMV, 2013.

63 f.

Inclui bibliografia.

Orientadora: Ana Célia Rodrigues Athayde

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Parasitologia. 2 – Gatos. 3 – Imunofluorescência indireta. 4 – Toxoplasmose. 5 – Zoonose.

I – Título.

CDU: 576.8:619

FICHA DE AVALIAÇÃO

NOME: FEITOSA, Thais Ferreira

Título: *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em felinos e suínos do Estado da Paraíba, Brasil.

DATA: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Ana Célia Rodrigues Athayde
UFCG/CSTR
Orientadora

Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira
1º membro – Universidade Federal da Paraíba – CCA, Areia PB

2º membro - Dr.^a Carolina de Sousa Américo Batista Santos, Bolsista de Pós-doutorado, UFCG.

A Deus, por sempre iluminar minha vida.

*Aos meus pais, Antônio e Tereza, por jamais
medirem esforços para a realização dos meus sonhos.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ter me concedido tudo que tenho até hoje e por ter iluminado o meu caminho durante esta jornada;

Aos meus pais Antônio Alves Feitosa Sobrinho e Tereza Alexandre Ferreira, pela educação e por depositarem toda a confiança em mim, acreditando que eu poderia chegar até onde cheguei.

Ao meu marido Vinícius Longo Ribeiro Vilela, por ter me ajudado, aconselhado, apoiado, dado amor e compreensão. Obrigada por ser meu companheiro de todas as horas.

A Professora Ana Célia Rodrigues Athayde. Obrigada por ter acreditado em mim e por tantas oportunidades oferecidas.

À minha Co-orientadora, Hilda Fátima de Jesus Pena, que mesmo com a distância, sempre me ajudou incansavelmente e proporcionou a realização do experimento. Obrigada acima de tudo pela amizade.

Aos meus grandes amigos e equipe de trabalho Dayana Firmino, Lídio Ricardo, João Leite, Diego Souto, Gian Libânio e Gabriela Longo. Agradeço pela ajuda indispensável, sempre de bom humor, apesar do árduo trabalho nos Matadouros. Adquirir a amizade de vocês foi um grande presente.

Aos amigos de turma do mestrado, em especial a Arthur Brasil, Rafaela Dias Roberta Nunes e Talita Frade que me acompanham desde a graduação e proporcionaram muitas risadas e bons momentos, são amigos que levarei por toda a vida.

Ao professor Sérgio Santos Azevedo pela ajuda e confiança indispensável nos trabalhos desenvolvidos. Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande. Aos funcionários Jonas Alves, Maria José, Damião, Quitéria e Dona Carmem, pela amizade e suporte prestado nesta trajetória.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Referências.....	14
2. CAPÍTULO I.....	15
2.1 Resumo.....	16
2.2 Introdução.....	17
2.3 Material e Métodos.....	17
2.4 Resultados.....	18
2.5 Discussão.....	23
2.6 Referências	25
3. CAPÍTULO II	29
3.1 Resumo.....	30
3.2 Introdução.....	31
3.3 Material e Métodos.....	32
3.4 Resultados.....	35
3.5 Discussão.....	39
3.6 Conclusão.....	41
3.7 Referências.....	42
4. CONCLUSÃO.....	47
5. ANEXO.....	48

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

	Pág.
Tabela 1 -Distribuição dos títulos de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> através da RIFI em gatos domiciliados e errantes do município de Patos, Paraíba.....	20
Tabela 2 -Análise univariável para os fatores de risco associados com a soropositividade para <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos do Município de Patos, Estado da Paraíba.....	22
Tabela 3 - Fatores de risco associados com a soropositividade para <i>Toxoplasma gondii</i> em gatos do Município de Patos, Estado da Paraíba.....	22

CAPÍTULO II

	Pág
Tabela 1 -Frequência de isolamento de <i>T. gondii</i> em 37 suínos do Estado da Paraíba, Nordeste Brasil, de acordo com título RIFI.....	36
Tabela 2 Tabela 2. Isolamento de <i>T. gondii</i> de suínos abatidos no estado da Paraíba, Brasil.....	36
Tabela 3 - Tabela 3. Fatores associados à frequência de suínos soropositivos para <i>Toxoplasma gondii</i> na análise univariada ($p < 0,05$) Paraíba, Brasil.....	38
Tabela 4 - Tabela 4. Fatores de risco associados com a soropositividade e isolamento para <i>T. gondii</i> em Suínos no estado da Paraíba, Brasil.....	38

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

	Pág.
Figura 1 - Mapa da Paraíba demonstrando a localização dos municípios de onde os suínos abatidos eram provenientes.....	33

RESUMO:

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são protozoários do gênero apicomplexa capazes de infectar uma grande variedade de animais de sangue quente. O *T. gondii* é uma zoonose, tem como hospedeiro definitivo os felinos e o consumo de carne de porco carne crua ou mal passada infectada é considerada uma importante fonte de transmissão deste parasita. O *N. caninum* não é uma zoonose, tem como hospedeiro definitivo o cão e é responsável por causar doença neurológica em cães e abortos em bovinos, caprinos e ovinos. Essa dissertação é formada por dois capítulos. No primeiro, intitulado *T. gondii* e *N. caninum* em gatos no semiárido, Brasil: Soroprevalência e fatores de risco, enviado a Research in veterinary Science, foi verificada a frequência de *T. gondii* e *N. caninum* em gatos domiciliados e errantes do município de Patos, mesorregião do Sertão paraibano. Para isso, foram coletadas amostras de sangue provenientes de 201 gatos, 132 domiciliados e 69 errantes, nos domiciliados foi aplicado um questionário epidemiológico aos proprietários. A Reação de Imunofluorescência Indireta foi realizada levando-se em consideração os pontos de corte 1:16 e 1:50 para *T. gondii* e *N. caninum*, respectivamente. Foi obtida uma prevalência total de 43,78% de gatos positivos para *T. gondii*. Nos domiciliados, a prevalência foi de 47,7% e nos errantes de 36,23%, com títulos variando de 1:16 a 1:8192, sendo a titulação 1:128 a mais frequente. Não se observou diferença estatística entre animais domiciliados e errantes. Verificou-se correlação entre soropositividade ao *T. gondii* e idade e hábito de caçar ($p < 0.05$). Nenhum animal foi positivo para *N. caninum*. Concluiu-se que é alta a prevalência de gatos positivos para *T. gondii* e que o *N. caninum* não está presente em gatos na área estudada. No segundo trabalho, intitulado Perfil sorológico e isolamento de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* de suínos do Estado da Paraíba, Brasil, enviado à Veterinary Parasitology, verificou-se a presença de anticorpos anti-*T. gondii* e *N. caninum*, os fatores de risco associados e o isolamento do *T. gondii* de suínos abatidos no Estado da Paraíba, Brasil. Foram utilizados 190 suínos provenientes de abatedouros públicos. O teste utilizado para a pesquisa de anticorpos foi a reação de imunofluorescência indireta e o isolamento foi realizado a partir dos tecidos dos animais positivos. Cérebro, coração e língua (total 50g) de 35 suínos positivos com títulos $\geq 1:64$ foram triturados, digeridos em pepsina e inoculados em camundongos. A prevalência de

anticorpos anti- *T. gondii* foi de 19,47% (37/190) com títulos variando de 64 a 2048. Cistos viáveis de *T. gondii* foram isolados de 14 dos 35 (40,53%) suínos soropositivos. A virulência dos isolados foi variada, três foram capazes de matar todos os camundongos inoculados. Os fatores de risco para a sorologia e isolamento foram, respectivamente, tipo de criação extensiva e alimentação com restos de comida, idade acima de nove meses e alimentação com restos de comida. A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em suínos foi de 3,15% (6/190) com títulos variando de 100 a 3200. Nenhuma das variáveis estudadas foram consideradas fatores de risco para *N. caninum*. Esses resultados revelam que é alta a prevalência de anticorpos de *T. gondii* em suínos do Estado da Paraíba, como também é elevada a porcentagem de cistos viáveis recuperados desses animais e que o manejo dos suínos está intimamente relacionado a infecção por este protozoário. Apesar de baixa a prevalência de *N. caninum* nos suínos faz-se necessários estudos para determinar a importância desse protozoário nesta espécie animal.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Gatos, imunofluorescência indireta, isolamento, neosporose, toxoplasmose, zoonose.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii and *Neospora caninum* are protozoans of the genus Apicomplexan able to infect a large variety of warm-blooded animals. The *T. gondii* is a zoonotic disease, has the cat as definitive host and raw or undercooked consumption of pork meat infected is considered an important source of transmission for humans. The *N. caninum* is a zoonosis, has as definitive host the dog, this parasite is responsible for causing neurological disease in dogs and abortions in cattle, goats and sheep. This dissertation is formed by two chapters. The first entitled *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in domestic cats from the Brazilian semi-arid: seroprevalence and risk factors, submitted Research in Veterinary Science, was to verified the seroprevalence of *T. gondii* and *N. caninum* in stray and domiciled cats from the municipality of Patos, Paraíba state, Brazil. Blood samples were collected from 201 animals: 132 domiciled cats and 69 stray cats. An epidemiological questionnaire was conducted with all cat owners. Indirect immunofluorescent antibody test (IFAT) was performed at cut-offs of 1:16 and 1:50 for *T. gondii* and *N. caninum*, respectively. Overall prevalence of positive cats for *T. gondii* was 43.78%. We found prevalence of 47.7% of domiciled cats and 36.23% of stray cats. Antibody titers ranged from 1:16 (cut-off) to 1:8192; 1:128 was the most frequent titer. No statistical difference was observed between domiciled cats and stray cats. Correlation was verified between seropositivity for *T. gondii* and age and hunting habit ($p < 0.05$). No animals tested positive for *N. caninum*. It was possible to conclude that there is high prevalence of cats positive for *T. gondii* and that *N. caninum* is not present in cats from the area studied. In the second chapter, entitled Serological profile and isolation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from pigs of Paraíba State, Brazil, verified the presence of antibodies anti-*T. gondii* and *N. caninum*, associated risk factors and isolation the *T. gondii* from slaughtered pigs of Paraíba State, Brazil. It was used 190 pigs from public slaughterhouses. The test used for the detection of antibodies was the indirect immunofluorescence and isolation was performed from animal tissues positives. Brain, heart and tongue (total 50g) of 37 pigs positive with titers $\geq 1:64$ were ground, digested in pepsin and inoculated in mice. The prevalence of antibodies anti-*T. gondii* was 19.47% (37/190) with titers ranging from 64 to 2048. Viable cysts of *T. gondii* were isolated from 14 of 37 (40.53%) seropositive pigs. The virulence of the isolates was varied, three were able to kill all the inoculated mice. Risk factors for

serology and isolation were, respectively, extensive breeding and feeding with leftovers, age over of nine months and feeding with leftovers. The prevalence of antibodies to *N. caninum* in pigs was 15.3% (6/190) with titers ranging from 100 to 3200. None of the variables were considered risk factors for *N. caninum*. These results shows that is high the prevalence of antibodies anti-*T. gondii* in swine in Paraíba State, as is high as the percentage of viable cysts recovered these animals and the management of swine is intimately related to infection by this parasite. Despite the low prevalence of *N. caninum* in pigs it is necessary studies to determine the importance of this parasite in this species.

INDEX TERMS: Gatos, imunofluorescência indireta, isolamento, neosporose, toxoplasmose, zoonose.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose pode causar prejuízos à saúde humana e animal. Estima-se que até um terço da população humana tenha sido exposta a esse parasita (DUBEY 1998), sendo bastante preocupante, pois a infecção crônica por *Toxoplasma gondii* pode ser um fator de risco para desenvolvimento de esquizofrenia e outros distúrbios do comportamento (YOLKEN E TORREY, 2008). Estudos apontam que a principal via de transmissão da toxoplasmose para humanos é o consumo de alimento contaminado, especialmente carne mal cozida contendo bradizoítas (COOK, et al., 2000). Entre os animais de produção, a carne suína é considerada a mais importante fonte de infecção para o ser humano (DUBEY, 2009; TENTER et al., 2000). Entretanto vários surtos, inclusive no Brasil, são relatados envolvendo a ingestão de oocistos do *T. gondii*, esta via de infecção tem o gato doméstico como responsável direto.

O *Neospora caninum* é responsável por causar doença neuromuscular em cães e problemas reprodutivos em bovinos. A neosporose é considerada a principal causa de aborto em bovinos no mundo (MOORE, 2005). Também já foi responsabilizada por abortos em caprinos e ovinos na Espanha (MORENO et al., 2012). Porém estudos sobre essa enfermidade em suínos e gatos são escassos quando comparados com os desenvolvidos com *T. gondii*. Até o presente momento não é sabido se este agente pode vir a causar algum dano à saúde dessas espécies.

Devido à importância dos suínos e gatos na transmissão da toxoplasmose para os seres humanos e a incipiência de estudos sobre o *N. caninum* nestas espécies, esta dissertação foi desenvolvida. No primeiro capítulo, é abordada a sorologia dos gatos domésticos e errantes para *T. gondii* e *N. caninum*. No segundo capítulo, além da sorologia para estes dois agentes, também foi realizado o isolamento do *T. gondii*.

REFERÊNCIAS

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

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, E. J. L.; SIMPSON, D. J. H. **Zoonosis**, Oxford: Oxford University Press, p. 579-597, 1998.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in pigs: the last 20 years. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 89-103, 2009.

MOORE, D.P. Neosporosis in South America. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 87-97, 2005.

MORENO B, COLLANTES-FERNÁNDEZ E, VILLA A, NAVARRO A, REGIDOR-CERRILLO J, ORTEGA-MORA LM. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. **Veterinary Parasitology**, v. 187, 312-308, 2012.

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

YOLKEN, R.H.; TORREY, E.F. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. **Molecular Psychiatry**, v. 13, p. 470-479, 2008.

CAPÍTULO I

***Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em felinos domésticos no semiárido brasileiro: frequência e fatores de risco**

Manuscrito submetido
à *Research in Veterinary
Science*, quails A2

***Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em felinos domésticos no semiárido
Brasileiro: frequência e fatores de risco**

**Thais Ferreira Feitosa¹, Vinícius Longo Ribeiro Vilela¹, Elaine Silva Dantas²,
Alânia Vilar Carvalho², Hilda Fátima de Jesus Pena³, Sergio Santos Azevêdo¹, Ana
Célia Rodrigues Athayde¹**

¹ Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Patos, PB, Brasil.58.708-110

² Programa de pós-graduação em Sistemas Agrossilvipastoris no semiárido, UFCG, Patos, PB, Brasil.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Resumo: Este trabalho teve como objetivo determinar frequência de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em gatos domiciliados e errantes do município de Patos, mesorregião do Sertão paraibano. Foram coletadas amostras de sangue provenientes de 201 gatos, 132 domiciliados e 69 errantes, nos domiciliados foi aplicado um questionário epidemiológico aos proprietários. A Reação de Imunofluorescência Indireta foi realizada levando-se em consideração os pontos de corte 1:16 e 1:50 para *T. gondii* e *N. caninum*, respectivamente. Foi obtida uma prevalência total de 43,78% de gatos soropositivos para *T. gondii*. Nos domiciliados, a prevalência foi de 47,7% (63/132) e nos errantes de 36,23% (25/69), com títulos variando de 1:16 a 1:8192, sendo a titulação 1:128 a mais frequente. Não se observou diferença estatística entre animais domiciliados e errantes. Verificou-se correlação entre soropositividade ao *T. gondii* e idade e hábito de caçar ($p < 0.05$). Nenhum animal foi soropositivo para *N. caninum*. Concluiu-se que é alta a prevalência de gatos positivos para *T. gondii* e que o *N. caninum* não está presente em gatos na área estudada.

Palavras-chave: Gatos, Neosporose, Zoonose, Toxoplasmose.

Introdução

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário capaz de infectar seres humanos e vários animais de sangue quente (Dubey, 2004), e os felídeos desempenham papel de destaque na transmissão do agente, pois são os únicos hospedeiros capazes de eliminar oocistos no ambiente, sendo responsáveis pelo ciclo natural desta doença (Dubey and Beatle, 1988). Os gatos são capazes de eliminar em torno de 20 milhões de oocistos entre três e 18 dias após a infecção (Dabritz et al. 2007). Estudos sorológicos nestes animais são utilizados para estimar a contaminação ambiental, visto que oocistos são raramente encontrados nas fezes (Miro et al., 2004; Dubey et al., 1995).

O *Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório, e têm os cães, coiotes e dingos como hospedeiros definitivos (Dubey; Schares; Ortega-Mora, 2007; King et al., 2010). Embora não se tenha relato de infecção natural pelo *N. caninum* em gatos, a infecção experimental já foi realizada nesta espécie (Dubey and Lindsay, 1989a). São poucas as informações sobre a soroprevalência de *N. caninum* em felinos no Brasil, sendo observadas apenas em São Paulo com frequências de 11.9 a 24.5% (Dubey et al. 2002, Bresciani et al. 2007) e Maranhão com prevalência de 27% (Braga et al. 2012).

No semiárido Brasileiro, assim como em outros locais, inúmeros são os trabalhos acerca do *T. gondii* e *N. caninum* em suínos, caprinos e ovinos (Azevedo et al. 2010, Faria et al. 2010, Araújo Neto et al. 2008), porém nenhum estudo foi realizado com o intuito de determinar a situação destes agentes em gatos. Dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo determinar a frequência de soropositividade para *T. gondii* e *N. caninum* e os possíveis fatores de risco em gatos domiciliados e errantes do município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil.

Material e métodos

A pesquisa foi realizada no município de Patos (7° 13'S, 37° 16'W), Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, no período de maio a agosto de 2011. Não foram utilizados critérios probabilísticos para a seleção dos animais domiciliados, sendo a escolha dos animais dependente do consentimento do proprietário. Foram colhidas amostras de

sangue de 201 gatos, sendo 132 domiciliados e 69 errantes. A colheita foi realizada pela punção da veia jugular, e o sangue foi centrifugado para obtenção do soro e posteriormente estocado a -20°C até o processamento das análises.

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi utilizada para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum*, utilizando pontos de corte de 1:16 e 1:50, respectivamente (Cruz et al. 2011, Dubey 1988b). Para detecção de anticorpos anti-*T. gondii*, foi utilizada amostra RH de taquizoítas de *T. gondii* fixados em lâmina (Camargo 1974), enquanto que para *N. caninum* foi utilizada a amostra Nc-1 de taquizoítas fixados em lâmina (Dubey et al., 1988b). Para ambos os agentes foi utilizado como conjugado anti-IgG felina (SIGMA, St. Louis, MO, EUA).

A frequência de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* foi estimada a partir da relação dos resultados positivos para o número total de gatos examinados, com o intervalo de confiança binomial exato de 95% (THRUSFIELD, 2004), utilizando-se o programa EpiInfo versão 6.04. A associação entre animais errantes de domiciliados com relação à frequência de positividade foi verificada pelo teste de qui-quadrado (ZAR, 1999), com nível de significância de 5%.

Para animais domiciliados foi aplicado questionário epidemiológico aos proprietários, cujas questões abordavam informações acerca da idade do animal, sexo, tipo de alimentação, acesso a rua, ambiente onde o animal vive, local onde o animal defeca e hábito de caçar (anexo). Para a análise de fatores de risco foram utilizadas as informações obtidas com os questionários, e foi conduzida em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente, e aquelas que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se regressão logística múltipla. O ajuste do modelo final foi verificado com o teste de Hosmer e Lemeshow, cujo valor de $p > 0,05$ indica boa qualidade de ajuste (Hosmer&Lemeshow 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 for Windows.

Resultados

Dos 201 gatos analisados, 88 (43,8%; IC 95% = 36,8% - 50,9%) foram soropositivos para *T. gondii*. Para gatos errantes dos 69 animais, 25 (36,2%; IC 95% =

25,0% - 48,7%) foram soropositivos, e dos 132 animais domiciliados 63 (47,7%; IC 95% = 38,9% - 56,6%) foram positivos. Não houve diferença estatística entre animais errantes e domiciliados com relação à frequência de soropositividade ($p = 0,159$). Não houve animais soropositivos para *N. caninum*.

Os títulos de anticorpos anti-*T. gondii* variaram de 16 até 8192, sendo 128 e 2048 os mais frequentes. Esta variação também foi observada nos animais domiciliados, com maior frequência de títulos 128, 1024 e 2048 (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* através da RIFI em gatos domiciliados e errantes do município de Patos, Paraíba, Brasil.

Títulos	Animais positivos	
	Nº de gatos errantes (%)	Nº de gatos domiciliados (%)
16	3 (12)	3 (4.8)
32	2 (8)	-
64	1 (4)	6 (9.5)
128	5 (20)	10 (15.9)
256	2 (8)	9 (14.3)
512	3 (12)	4 (6.4)
1024	3 (12)	10 (15.9)
2048	4 (16)	10 (15.9)
4096	-	8 (12.7)
8192	2 (8)	3 (4.8)
Total	25 (100)	63 (100)

Resultados da análise univariável dos fatores de risco para *T. gondii* estão apresentados na Tabela 2. As variáveis idade, tipo de alimentação e hábito de caçar foram selecionadas ($P \leq 0,20$) para a análise multivariável. As variáveis idade de 1-4 anos (oddsratio = 4,85), idade > 4 anos (oddsratio = 16,54) e hábito de caçar (oddsratio = 2,43) foram identificadas como fatores de risco pela regressão logística (Tabela 3). O modelo final apresentou ajuste satisfatório pelo teste de Hosmer e Lemeshow (chi-square = 2,248; $P = 0,690$).

Tabela 2. Análise univariável para os fatores de risco associados com a soropositividade para *Toxoplasma gondii* em gatos do Município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil

Variável/categoria	No. total de gatos	No. de gatos soropositivos (%)	P
Sexo			
Macho	72	33 (45.8)	
Fêmea	60	30 (50)	0,762
Idade (anos)			
0-1	42	8 (19)	
1-4	66	36 (54.5)	
> 4	24	19 (79.2)	< 0,001
Tipo de alimentação			
Ração	48	15 (31.2)	
Ração + Carne	84	48 (57.1)	0,007
Acesso a Rua			
Não	36	16 (44.4)	
Sim	96	47 (49.0)	0,790
Ambiente que o animal vive			
Terra	80	38 (47.5)	
Cimento/ Cerâmica	52	25 (48.1)	1,000
Local onde o animal defeca			
Caixa de areia	31	13 (41.9)	
Na Rua	101	50 (49.5)	0,594
Hábito de caçar			
Não	52	18 (34.6)	
Sim	80	45 (56.2)	0,024

Tabela 3. Fatores de risco associados com a soropositividade para *Toxoplasma gondii* em gatos do Município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil, determinados por regressão logística múltipla.

Variável	Odds ratio (IC 95%)	P
Idade de 1-4 anos	4,85 (1.92-12,25)	0,001
Idade > 4 anos	16,54 (4.61-59.28)	0,001
Hábito de caçar	2,43 (1.08-5,42)	0,031

Hosmer and Lemeshow test: chi-square = 2.248; P = 0.690.

Discussão

A alta frequência de gatos soropositivos encontrados(43,8%) indica a possibilidade de haver grande contaminação ambiental por oocistos, sugerindo-se que os gatos estão desempenhando um papel de destaque na epidemiologia da toxoplasmose na área estudada. A elevada contaminação ambiental é um fator preocupante, pois favorece o aparecimento de surtos da doença em seres humanos e animais devido à contaminação dos reservatórios de água, de alimentos ou até mesmo por inalação (Carmo et al. 2010; Dubey et al. 2004).

Diferente dos resultados encontrados neste estudo, Rosa et al. (2010) e Cruz et al. (2011) encontraram baixa prevalência de *T. gondii* no Sul do Brasil, atribuindo esse resultado à forma de criação dos animais, uma vez que a maior parte destes tinham hábitos estritamente domiciliados e ingeriam apenas produtos industrializados. Nesta pesquisa, 71,96% (95/132).dos animais domiciliados tinham acesso à rua e não se alimentavam exclusivamente de comida industrializada.

Os índices de prevalência observados nesta e em outras pesquisas dependem de vários fatores, dentre eles a técnica e os pontos de cortes adotados. A falta de padronização das técnicas de diagnóstico dificulta a comparação dos resultados obtidos. No Maranhão, Braga et al. (2012) utilizaram a RIFI com ponto de corte 1:40, observando 50,5% de prevalência. Já em Santa Catarina, Rosa et al. (2010) utilizaram ponto de corte 1:64 e obtiveram 14.33% de prevalência. Em outras pesquisas pode-se observar até a mudança da técnica utilizada, como Teste de Hemaglutinação Indireta e Teste de Aglutinação Modificada, observando prevalências de 26.9% a 35.4% (Pinto et al. 2009, Pena et al. 2006).

Não houve diferença estatística entre positividade de gatos domiciliados e errantes, provavelmente devido a grande maioria dos domiciliados ter livre acesso a rua e dessa forma se expor ao agente. DeFeo et al. (2002) também não observaram diferença entre essas categorias. Entretanto, vários autores indicam que há tendência dos gatos errantes terem maior prevalência quando comparados aos domiciliados (Raeghiet al. 2011, Miro et al. 2004).

Quanto ao sexo dos animais, não foi observado diferença, tanto nos animais domiciliados como nos errantes, indicando que os gêneros têm a mesma chance de

serem positivos para o *T. gondii*. Corroborando com outros autores que obtiveram o mesmo resultado em suas pesquisas (Rosa, 2010; Cruz et al. 2011).

Dependendo dos títulos obtidos de IgG, pode-se apenas sugerir que a infecção é recente ou ativa quando apresenta títulos acima de 256 ou latente quando for menor (Lappin, 2004). Neste trabalho 27 animais apresentaram títulos superiores a 1024, Brescianiet al. (2007) relataram que títulos superiores a 1024 normalmente é um forte indicador de que o animal está com toxoplasmose de forma assintomática ou apresentando sinais clínicos,.

A idade dos animais foi considerada um fator de risco para a presença de anticorpos para *T. gondii*. Corroborando com os trabalhos de Pena et al. (2006), Miro et al. (2004), Pinto et al. (2009). Essa associação pode ser explicada pelo fato de que animais mais velhos têm mais chances de se infetarem, pois foram expostos mais vezes. Entretanto alguns autores não observaram diferença entre as idades nos seus estudos (Cruz et al. 2011).

Trabalhos mostram que o acesso à rua é um fator de risco para a positividade sorológica dos gatos (Pena et al. 2006; Rosa et al. 2010), porém nesta pesquisa nenhum dos possíveis fatores de risco, como acesso a rua, lugar onde o animal defeca e ambiente em que o animal vive foram significativos para a infecção por *T. gondii*.

A prevalência de anticorpos em animais que se alimentavam apenas de ração foi de 31.1%, enquanto os animais que se alimentavam de ração juntamente com carne foi 57.1%, com associação positiva na análise univariada. O hábito de caçar também se mostrou significativo para *T. gondii*. Esses resultados podem ser explicados pela biologia do parasito que envolve em uma de suas rotas a formação de bradizoítos nos tecidos dos animais e assim o gato pode se contaminar pela ingestão destes tecidos contendo o parasito. Raeghiet al. (2011) também observaram a associação positiva entre a ingestão de carne e positividade dos felinos estudados.

Assim como neste trabalho, Arunvipaset al. (2012) não encontraram animais positivos para *N. caninum*. Entretanto, Dubey et al. (2002) fizeram a primeira detecção no mundo de gatos positivos por infecção natural por *N. caninum* em estudo realizado no Brasil. Em outros estudos conduzidos no Brasil foram encontrados animais positivos e ainda correlação entre positivos para *T. gondii* e *N. caninum* (Braga et al. 2012; Bresciani et al. 2007).

Estudos sobre o *N. caninum* em gatos ainda são escassos, necessitando-se de mais pesquisas que elucidem o papel dos gatos na epidemiologia dessa doença e se este protozoário é capaz de produzir agravos à saúde destes animais.

Concluiu-se que é alta a prevalência de gatos soropositivos para *T. gondii*, sendo a idade e o hábito de caçar um fator de risco relevante para a infecção por este protozoário. Não foi observada a presença de *N. caninum* nos animais estudados.

Referências

Araújo Neto, J.O., Azevedo, S.S., Gennari, S., Funada, M., Pena, H., Araujo, A. Batista, C., Silva, M., Gomes, A., Piatti, R., 2008. Prevalence and risk factors for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte state, Northeast region of Brazil. *Veterinary Parasitology* 156, 329-332.

Arunvipas, P., Inpankaew, T., Jittapalapong, S., 2012. Risk factors of *Neospora caninum* infection in dogs and cats in dairy farms in Western Thailand. *Tropical Animal Health and Production* 44, 1117-1121.

Azevedo, S.S., Pena, H.F.J., Alves, C.J., Guimaraes Filho, A.A.M., Oliveira, R.M., Maksimov, P., Schares, G., Gennari, S.M., 2010. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 19, 1-5.

Braga, M.S.C.O., André, M.R., Jusi, M.M.G., Freschi, C.R., Teixeira, M.C.A., Machado, R., 2012. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 21, 107-111.

Bresciani, K.D.S., Gennari, S.M., Serrano, A.C.M., Rodrigues, A.A.R., Ueno, T., Franco, L.G., 2007. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. *Parasitology Research* 100, 281-285.

Carmo, E.L., Povoá, M.M., Monteiro, N.S.S., Marinho, R.R., Nascimento, J.M.S., Freitas, S., Bichara, C.N., 2010. Surto de toxoplasmose humana no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 1, 61-66.

Cruz, M.A., Ullmann, L.S., Montaña, P.Y, Hoffmann, J.L., Langoni, H., Biondo, A.W., 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 20, 256-258.

DeFeo, M.L., Dubey, J.P., Mather, T.N., Rhodes, R.C., 2002. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. *American Journal of Veterinary Research* 63, 1714–1717.

Dabritz, H.A., Miller, M.A., Atwill, E.R., Gardner, I.A., Leutenegger, C.M., Melli, A.C., Conrad, P.A., 2007. Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. *Journal of American Veterinary Medical Association* 231, 1676–1684.

Dubey, J.P., Beattie, C.P. (Eds.), 1988. *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Florida, 220 pp.

Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J., Uggla, A., 1988b. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* 192, 1269–1285.

Dubey, J.P., Weigel, R.M., Siegel, A.M., Thulliez, P., KITRON, U.D., Mitchell, M.A., Mannelli, A., Mateus-Pinilla, N. E., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Todd, K.S., 1995. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *Journal of Parasitology* 81, 723–729.

Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Hill, D., Romand, S., Thulliez, P., Kwok, O.C., Silva, J.C., Oliveira-Camargo, M.C., Gennari, S.M., 2002. Prevalence of antibodies to

Neosporacanium and *Sarcocystisneurona* in sera of domestic cats from Brazil. *Journal of Parasitology* 88, 1251–1252.

Dubey, J.P., Lindsay, D.S., 1989. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *Journal of Parasitology* 75, 765–771.

Dubey, J.P., 2004. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. *VeterinaryParasitology* 126, 57-72.

Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M., 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews* 20, 323-367.

Faria, E.B., Cavalcanti, E.F.T.S.F., Medeiros, E.S., PinheiroJúnior, J.W., Azevedo, S.S., Athayde, A.C.R., Mota, R.A., Mota, R.A., 2010. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. *The Journal of Parasitology* 26, 197-199.

Hosmer, D.W., Lemeshow, S. (Eds.), 2000. *Applied logistic regression*. John Wiley & Sons, New York, 375 pp.

King, J.S., Slapeta, J., Jenkins, D.J., Al-Qassab, S.E., Ellis, J.T., Windsor, P.A., 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology* 40, 945-950.

Lappin, M.R., (Ed.), 2004. Infecções Protozoárias e Mistas. In: Ettinger, S.J., Feldman, E.C. (Eds.), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. Guanabara, Rio de Janeiro, pp. 433-435.

Miró, M., Montoya, A., Jiménez, S., Frisuelos, C., Mateo, M., Fuentes, I., 2004. Prevalence of contrabodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *VeterinaryParasitology* 126, 249–255.

Pena, H.F.J., Soares, R.M., Amaku, M., Dubey, J.P., Gennari, S.M., 2006. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Research in Veterinary Science* 81, 58-67.

Pinto, L.D., Araújo, F.A.P., Stobbe, N.S., Marques, S.M.T., 2009. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciência Rural* 39, 2464-2469.

Raeghi, S., Sedeghi, S., 2011. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in Urmia, Northwest of Iran. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 21, 132-134.

Rosa, L.D., Moura, A.B., Trevisani, N., Medeiros, A.P., Sartor, A.A., Souza, A.P.V., 2010. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 19, 268-269.

Thrusfield, M. (Ed.), 2004. *Epidemiologia Veterinária*. Roca, São Paulo, 556 pp.

Zar, J.H., (Ed.), 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey, 663 pp.

CAPÍTULO II

Perfil sorológico de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* isolamento *T. gondii* de suínos abatidos no Estado da Paraíba, Brasil

Manuscrito submetido à
VeterinaryParasitology,
qualisA1

Perfil sorológico de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* isolamento *T. gondii* de suínos abatidos no Estado da Paraíba, Brasil

Thais Ferreira Feitosa¹, Vinícius Longo Ribeiro Vilela¹, Hilda Fátima de Jesus Pena², Sérgio Santos Azevêdo¹, João Leite de Almeida Neto¹, Lídio Ricardo Bezerra de Melo¹, Diego Vagner de Oliveira Souto¹, Dayana Firmino Morais², Ana Célia Rodrigues Athayde¹

¹ Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Patos, PB, Brasil. CEP: 58.708-110

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Resumo: Este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* e *N. caninum*, identificar os fatores de risco associados e ainda isolar o *T. gondii* de suínos abatidos no Estado da Paraíba, Brasil. Foram utilizados 190 suínos provenientes de abatedouros públicos. O teste utilizado para a pesquisa de anticorpos foi a reação de imunofluorescência indireta e o isolamento foi realizado a partir dos tecidos dos animais positivos. Cérebro, coração e língua (total 50g) de 35 suínos positivos com títulos $\geq 1:64$ foram triturados, digeridos em pepsina e inoculados em camundongos. A prevalência de anticorpos anti- *T. gondii* foi de 19,47% (37/190) com títulos variando de 64 a 2048. Cistos viáveis de *T. gondii* foram isolados de 14 dos 35 (40,53%) suínos soropositivos. A virulência dos isolados foi variada, três foram capazes de matar todos os camundongos inoculados. Os fatores de risco para a sorologia e isolamento foram, respectivamente, tipo de criação extensiva e alimentação com restos de comida, idade acima de nove meses e alimentação com restos de comida. A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em suínos foi de 3,15% (6/190) com títulos variando de 100 a 3200. Nenhuma das variáveis estudadas foram consideradas fatores de risco para *N. caninum*. Esses resultados revelam que é alta a prevalência de anticorpos de *T. gondii* em suínos do Estado da Paraíba, como também é elevada a porcentagem de cistos viáveis recuperados desses animais e que o manejo dos suínos

está intimamente relacionado a infecção por este protozoário. Apesar de baixa a prevalência de *N. caninum* nos suínos faz-se necessários estudos para determinar a importância desse protozoário nesta espécie animal.

1. Introdução

A toxoplasmose é uma enfermidade de distribuição mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que acomete o homem, animais domésticos e selvagens (Dubey; Beattie, 1988). Os felinos domésticos e silvestres são os hospedeiros definitivos, sendo o gato (*Felis catus domesticus*) o principal.

Dentre os produtos derivados dos animais de produção, hospedeiros intermediários, a carne suína é considerada a mais importante fonte de infecção para o ser humano (Dubey 2009; Tenteret al., 2000). Pesquisas indicam que *T. gondii* é capaz de persistir viável nos tecidos de suínos vivos por longos períodos (Dubey, 1988a). Apesar de haver alguns estudos sorológicos em suínos no Brasil, poucos são os que relatam o isolamento de *T. gondii* (Mendonça et al., 2004; Santos et al., 2005; Frazão-Teixeira et al., 2006; Bezerra et al., 2009).

Os principais problemas causados por *T. gondii* são de ordem reprodutiva, causando aborto, natimortalidade e mumificação fetal em fêmeas que se infectam pela primeira vez durante a gestação (Tsutsui et al., 2003).

Outra doença que emergiu nos últimos anos e tem sido extensivamente estudada, por causar doença neuromuscular em cães e problemas reprodutivos em bovinos, é a neosporose. O seu agente etiológico é morfologicamente similar ao *T. gondii*, sendo confundido com este até Dubey et al. 1988b determinarem que apesar das semelhanças, diferenças estruturais e patogênicas existem, se tratando então de agentes distintos, levando ao reconhecimento de um novo gênero e uma nova espécie, *Neospora caninum*. Os cães, coiotes e dingos são hospedeiros definitivos deste protozoário, sendo responsáveis pela eliminação dos oocistos (Dubey; Schares; Ortega-Mora, 2007; King et al., 2010). Nota-se a escassez de estudos sobre o *N. caninum* em suínos quando comparado com outros animais de produção. No Brasil, foi descrita pela primeira vez em suínos por Azevedo et al. (2010) que observaram 3,1% de animais soropositivos abatidos em Patos-PB utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Westernblot.

Devido a importância do *T. gondii* na saúde pública e animal e a escassez de estudos sobre o *N. caninum* em suínos, este trabalho teve como objetivo realizar um estudo soropidemiológico desses agentes e isolar o *T. gondii* de suínos abatidos no estado da Paraíba, Brasil

2. Material e Métodos

2.1 Suínos abatidos

No total, foram utilizados 190 suínos provenientes de abatedouros públicos do Estado da Paraíba e as coletas foram realizadas no período de Julho a Novembro de 2012. As duas únicas cidades que apresentavam liberação para o abate desses animais eram Patos-PB e Esperança-PB, porém os animais eram provenientes de várias cidades circunvizinhas (Figura 1). Os derivados dos suínos abatidos não passam por nenhum tipo de tratamento (salga ou congelamento) e são comercializadas nas feiras livres e supermercados desses municípios.

As amostras de sangue foram obtidas durante a sangria. Depois de abatidos, as amostras teciduais de língua, coração e cérebro foram coletadas na linha de abate e acondicionadas individualmente em sacos plásticos, devidamente identificados, armazenados em isopor com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, para realização das análises.

2.2 Exame Sorológico para pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum*

Os soros dos suínos foram examinados para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* através da RIFI (CAMARGO, 1974), usando amostra RH de taquizoítas de *T. gondii* fixados em lâmina. O ponto de corte utilizado foi 1:64 (Garcia et al., 1999). A RIFI também foi utilizada para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, usando amostra Nc-1 de taquizoítas de *N. caninum* fixados em lâmina (Dubey et al., 1988b). O ponto de corte utilizado foi 1:50 (Azevedo et al., 2010). Controles positivos e negativos foram utilizados em ambos os testes.

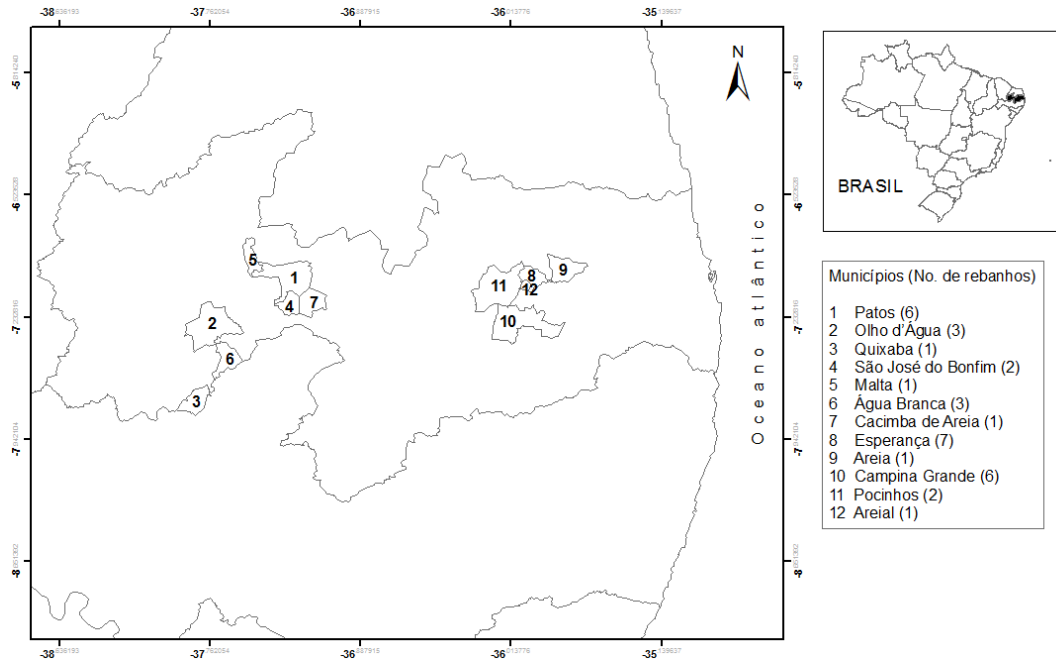


Figura 1. Mapa da Paraíba demonstrando a localização dos municípios de onde os suínos abatidos foram provenientes.

2.3 Isolamento de *T. gondii* em camundongos

Os tecidos (cérebro, coração e língua) eram mantidos sob refrigeração até a obtenção dos resultados das RIFI. Os tecidos dos animais soropositivos eram cortados em pequenos fragmentos, sendo removida a gordura e o tecido conectivo e utilizados para bioensaio em camundongo segundo protocolo de Dubey (1998b). De cada órgão foi utilizado aproximadamente 16,6g, até completar o total de 50g. Para cada animal positivo, foram utilizados em média cinco camundongos, alojados na mesma caixa.

Os animais que vieram a óbito foram examinados para pesquisa de *T. gondii* nos tecidos, como descrito previamente por Dubey e Beattie (1988). Os camundongos que sobreviveram até seis semanas pós-inoculação foram examinados sorologicamente para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, através da RIFI com ponto de corte 1:16. Então, os soropositivos permaneciam no experimento até dois meses pós-inoculação (PI), quando então eram eutanasiados e examinados para pesquisa de *T. gondii*; Já os soronegativos eram eutanasiados após o resultado da sorologia e submetidos ao mesmo exame. Os camundongos foram considerados positivos quando cistos eram observados em seus tecidos (Dubey et al., 2002).

2.4 Questionário epidemiológico

Os proprietários dos 190 suínos foram entrevistados individualmente e questionados sobre as condições das propriedades, tipo de criação, tipo de alimentação, ambiente onde o animal vive, abortamentos na propriedade, presença de gatos e idade dos animais (anexo).

2.5 Análise estatística

Para a análise de fatores de risco associados com a frequência de soropositividade e isolamento foram utilizados os dados coletados nos questionários epidemiológicos. A análise de fatores de risco foi conduzida em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (soropositividade e isolamento), e aquelas que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ pelo teste de qui-quadrado (Zar 1999) foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se regressão logística múltipla

(Hosmer&Lemeshow 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

3. Resultados

A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos abatidos no Estado da Paraíba foi de 19,47% (37/190). Na cidade de Patos a prevalência foi de 17,39% (16/92) e em Esperança foi de 21,42% (21/98).

T. gondii foi isolado em 40,54% (14/37) dos suínos soropositivos com títulos \geq 64 na RIFI. Não se observaram associações entre os títulos de anticorpos e o isolamento em camundongos (Tabela 1).

Dos 14 isolados, nove foram letais para pelo menos um dos cinco camundongos inoculados. Observou-se também que quatro isolados foram capazes de matar todos os camundongos inoculados, nos outros 10 pelo menos um camundongo resistiu até os 42 dias P. I. quando então foi realizada a sorologia e os positivos foram eutanasiados aos 60 dias (Tabela 2).

Tabela 1. Frequência de isolamento por bioensaio em camundongos de *Toxoplasma gondii* em 37 suínos do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, de acordo com título RIFI.

Titulação	Nº de suínos soropositivos e bioensaiados	<i>T. gondii</i> isolado	%
64	9	4	44,4
128	12	4	33,3
256	7	2	20
512	3	2	66,6
1024	4	2	50
2048	2	0	0
Total	37	14	37,83

Tabela 2. Isolamento de *T. gondii* de suínos abatidos no estado da Paraíba, Brasil.

Município (nº de isolados)	Identifi- cação	Titulação da RIFI	Bioensaio em Camundongos		
			Nº de camundongos por grupo	Nº de mortos/nº de infectados	Dia da morte (P. I.)
Patos (3)	2	256	5	5/5	15,17,18,19,20
	22	128	5	5/5	22,23,25
	41	512	5	0/2	Nd
Olho d'água (3)	23	64	5	0/1	Nd
	87	128	6	4/5	37,33,35,42
	66	1024	5	1/4	30
Água Branca (1)	14	128	5	0/2	Nd
Quixaba (2)	92	128	6	5/5	23,25,28,35,53
	57	1024	5	0/1	Nd
Esperança (2)	126	512	5	5/5	18,19,19,20,20
	153	64	4	1/1	30
Areial (1)	146	256	5	3/2	11,22,30
Campina Grande(2)	152	64	4	0/1	Nd
	131	64	6	3/6	Nd

nd: Camundongos eutanasiados no final do experimento.

A tabela 3 mostra a distribuição e os fatores de risco analisados na sorologia. Não foram observadas associações significativas entre as variáveis sexo, idade, e abortos com a infecção por *T. gondii*.

Verificou-se maior frequência de animais soropositivos (26,1%) em propriedades que possuíam gatos, quando comparado com suínos criados em propriedades sem a presença de gatos (13,7%). O ambiente em que o animal vive também mostrou uma associação positiva nos soropositivos que viviam em piquetes de terra (30,8%) quando comparado com os animais que viviam em piquetes de cimento (11,6%). A presença de gatos e a criação em piquetes de terra mostraram uma associação positiva na análise univariada ($p=0,049$ e $p=0,002$, respectivamente), sendo, porém excluídos na análise multivariada.

A regressão logística multivariável mostrou que a criação extensiva (Odds ratio 3.82; $p=0,007$) e alimentação com restos de comida (Odds ratio 5.19; $p=0,007$) foram considerados fatores de risco para infecção por *T. gondii*.

Os fatores de risco analisados em relação ao isolamento foram os mesmos verificados na sorologia. Na análise univariada não se observaram associações significativas entre as variáveis sexo ($p=0,942$), tipo de criação ($p=0,091$), ambiente ($p=0,120$), presença de gatos (0,572) e abortamento ($p=1,000$) e o isolamento do *T. gondii* em camundongos.

A regressão logística final mostrou que a idade > 9 meses (Odds ratio 8.25; $p=0,056$) e alimentação com restos de comida (Odds ratio 11.55; $p=0,021$) foram considerados fatores de risco para o isolamento do *T. gondii* dos tecidos dos suínos (Tabela 4.).

A prevalência de anticorpos anti *N. caninum* em suínos foi de 3,15% (6/190), nos animais abatidos na cidade de Patos foi de 3,26% (3/92) e Esperança de 3,06% (3/98). Não houve diferença estatística entre as variáveis sexo ($p=0,685$), idade ($p=0,266$), tipo de alimentação ($p=1,000$), tipo de criação ($p=0,130$), ambiente em que o animal vive ($p=1,000$) e ocorrência de abortos ($p=1,000$).

Tabela 3. Fatores associados à frequência de suínos soropositivos para *Toxoplasma gondii* na análise univariada ($p < 0,05$) Paraíba, Brasil.

Variável/categoria	Nº total de suínos	Nº de suínos soropositivos RIFI (%)	P	Nº de Isolados (%)	P
Sexo					
Macho	90	16 (17.8)	0,706	8 (57,1)	0,942
Fêmea	100	21 (21)		6 (42,9)	
Idade (meses)					
Até 5	48	6 (12.5)	0,179	1 (7,2)	<0,00
6-9	99	19 (19.2)		5 (35,7)	
>9	43	12 (27.9)		8 (57,1)	
Tipo de alimentação*					
Ração	87	4 (4.6)	<0,00	4 (28,6)	<0,00
Restos de comida	103	33(32.0)		10 (71,4)	
Tipo de criação*					
Intensiva	147	16 (10.9)	<0,00	8 (57,1)	0,091
Extensiva	43	21 (48.8)		6 (42,9)	
Ambiente que o animal vive					
Terra*	78	24 (30.8)	0,002	8 (57,1)	0,120
Cimento	112	13 (11.6)		6 (42,9)	
Presença de gatos*					
Não	102	14 (13.7)	0,049	8 (57,1)	0,572
Sim	88	23 (26.1)		6 (42,9)	
Abortamentos					
Não	172	33 (19.2)	0,757	13 (92,8)	1,000
Sim	18	4 (22.2)		1 (7,2)	

* Todas as variáveis foram estatisticamente significantes $P \leq 0.2$ e submetidas ao modelo da regressão logística.

Tabela 4. Fatores de risco associados com a soropositividade e isolamento para *T. gondii* em Suínos no estado da Paraíba, Brasil.

	Variável	Oddsratio (IC 95%)	P
Sorologia ^a	Criação extensiva	3.82 (1.6-9,12)	0,003
	Alimentação com restos de comida	5.19 (1.58-16.98)	0,007
Isolamento ^b	Idade > 9 Meses	8.25 (0.95-71.57)	0,056
	Alimentação com restos de comida	11.55 (1.45-92.18)	0,021

^aHosmer and Lemeshow teste: chi-square <0.001; P = 1.000

^bHosmer and Lemeshow teste: chi-square = 0.864; P = 0.932

4. Discussão

A prevalência de 19,47% para *T. gondii* encontrada neste estudo foi relativamente baixa quando comparada ao último estudo realizado em 2006 na cidade de Patos, Paraíba, quando Azevedo et al. (2010) constatou uma prevalência de 36,2%. Esperava-se uma maior prevalência, visto que Bezerra et al. 2009 encontraram 46,8% de animais positivos provenientes de criações rústicas no Estado da Bahia, semelhantes as encontradas neste estudo, onde a grande maioria dos suínos eram provenientes de criações familiares, sem nenhuma tecnificação e classificada como uma atividade secundária, complementar. O grau de tecnificação é considerado um fator determinante para a infecção por *T. gondii* em granjas suinícolas (Oliveira et al. 2007; Bezerra 2009).

Considerando que a densidade de cistos de *T. gondii* na carne de porco é baixa, aproximadamente um cisto para cada 25g de tecido (Dubey 2009), a taxa de isolamento obtida neste estudo foi bastante alta, *T. gondii* foi isolado de 37,83% dos suínos com títulos ≥ 64 na RIFI. O isolamento em camundongos é menos sensível visto que se utilizam apenas 50g de tecido para inoculação. Melhores resultados são obtidos quando o isolamento é realizado em gatos, pois além de serem os hospedeiros definitivos do parasita, a quantidade de tecidos oferecidos para esses animais é bem maior, cerca de 500 g. Dubey et al. (1995) verificaram que o isolamento em gatos era o dobro do obtido com camundongos, porém o isolamento em gatos além de envolver aspectos éticos, é dispendioso (Forbes et al., 2012; Gardner et al., 2010). Isso indica que o número de animais que apresentavam parasitas viáveis provavelmente era bem maior e que as carnes que foram postas para consumo estavam contaminadas, sendo fonte de infecção para humanos e animais.

Não foi observada associação estatística entre a titulação dos animais e o isolamento em camundongos, resultado também observado por Santos et al. (2005) em pesquisa desenvolvida no estado de São Paulo envolvendo 286 suínos. Porém, diferem dos resultados com galinhas, gatos e ovinos (Beltrame et al., 2012; Pena et al., 2008; Villena et al., 2012).

A virulência dos isolados depende de muitos fatores, dentre eles a quantidade de cistos viáveis contidos no material inoculado, linhagem de camundongo utilizado no experimento e a via de inoculação, a via intraperitoneal aumenta a virulência do *T.*

gondii (Dubey et al. 2002). Dos 14 isolados, cinco (33,3%) foram letais para todos os camundongos inoculados. Muitos estudos apontam que os isolados provenientes do Brasil são extremamente virulentos e letais para os camundongos, Santos et al. (2005) encontraram 100% de letalidade dos isolados de suínos em São Paulo, Ragozo et al. (2010) verificaram em caprinos provenientes de três estados do Brasil alta letalidade dos isolados, dez de 12 isolados foram letais para 100 dos camundongos. Em contrapartida, nos EUA predominam isolados menos virulentos, Dubey et al. (2012) não obtiveram nenhum isolado virulento para camundongos.

Apesar de idade acima de nove meses ter sido significativa apenas na análise univariada, outros autores, como Vilariet et al. (2009) e Klum et al. (2011) observaram em seus estudos na Itália e Sérvia, respectivamente, que suínos adultos apresentam maiores probabilidades de soropositividade para *T. gondii* em relação aos mais jovens. Entretanto, animais muito jovens (< 3 meses) também podem apresentar alta soroprevalência devido a presença de anticorpos colostrais (Lopes et al., 2012).

O sexo também não foi considerado importante para infecção por *T. gondii* indicando que os gêneros estão expostos igualmente ao risco de infecção. Azevedo et al. (2010), Valença et al. (2011) e Lopes et al. (2012) também não observaram diferenças quanto ao sexo em suas pesquisas, por outro lado Klum et al. (2011) e Moura et al. (2007) verificam associação significativa para a variável sexo, sendo as matrizes mais acometidas que os machos. Isso pode acontecer devido as diferenças hormonais, fisiológicas e de manejo, onde as porcas tem mais tempo para exposição com *T. gondii* devido a seu maior tempo de vida (Silva et al., 2003; Klum et al., 2011).

Apesar da presença de gatos na propriedade não ter sido selecionada como fator de risco, muitos trabalhos mostram a importância da presença destes no aumento da prevalência em suínos (Ortega-Pacheco et al., 2011; Du, et al., 2012). As propriedades estudadas não possuíam controle de pragas, tampouco de animais, portanto quando o produtor relata que não há gatos em sua propriedade não significa dizer que nenhum gato visita sua propriedade, pois esses animais tem o hábito noturno e podem transitar livremente entre as propriedades.

A criação extensiva foi considerada fator de risco para infecção por *T. gondii*. Neste tipo de criação, o animal percorre várias extensões da propriedade a procura de comida e uma das fontes de contaminação para os suínos é a ingestão de oocistos

presentes no solo e água contaminada. A criação extensiva permite a exposição do animal ao parasita, aumentando as chances de infecção, diferentemente da criação intensiva onde o animal vive em piquetes sem contato com o meio exterior. Esse resultado corrobora com outros estudos que também indicam que a criação extensiva é um fator de risco para infecção por *T. gondii* em suínos (Giessemet al., 2007; Bezerra et al., 2009; Cavalcante et al., 2011)

A alimentação com restos de comida, um costume ainda presente nas criações do Estado da Paraíba, também foi considerado fator de risco para infecção por *T. gondii*. Os restos alimentares oferecidos para esta espécie, muitas vezes contém carnes mal cozidas ou até mesmo cruas contaminadas e estas promovem a infecção nesses animais (Giraldet al., 1996). Esse é mais um fator que evidencia que a criação tecnificada pode minimizar a infecção por este protozoário, pois nesta os animais são alimentados apenas com ração.

A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* foi de 3.15%, semelhante ao resultado obtido por Azevedo et al. (2010) que foi de 3.1% em suínos abatidos na cidade de Patos, Paraíba. Esses resultados são considerados altos quando comparados com outras pesquisas. Na Alemanha, Damriyasa et al. (2004) encontraram apenas um suíno positivo de um total de 2041 analisadas por meio do teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e na Inglaterra 454 porcas foram negativas pela RIFI (Helmick et al., 2002). A sorologia indica que os suínos podem ser hospedeiros naturais deste protozoário, porém a comprovação dessa hipótese apenas será possível após o isolamento do *N. caninum* de uma infecção natural.

5. Conclusão

Conclui-se que é elevada a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos abatidos no Estado da Paraíba, Brasil e que provavelmente uma elevada quantidade de carne com cistos de *T. gondii* viáveis está sendo comercializada. O manejo desses animais está diretamente ligado à infecção por este protozoário. É baixa a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* presentes na população suína, necessitando-se mais estudos para elucidar seu papel na epidemiologia deste parasita.

Referências

Azevedo, S.S., Pena, H.F.J., Alves, C.J., Guimaraes Filho, A.A.M., Oliveira, R.M., Maksimov, P., Schares, G., Gennari, S.M., 2010. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 19, 1-5.

Bezerra, R.A., Paranhos, E.B., Del'Arco, A.E., Albuquerque, G.R., 2009. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 18, 78-80.

Beltrame, M.A.V., Pena, H.F.J., Ton, N.C., Lino, A.J.B., Gennari, S.M., Dubey, J.P., Pereira, F.E.L., 2012. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Espírito Santo state, southeastern Brazil. Vet. Parasitol. 10, 225-230.

Cavalcanti, E.F.T.S.F., Simoes, S., Faria, E.B., Fernandes, M.F.T.S., Pinheiro Júnior, J.W., Mota, R.A., 2011. Anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em suínos abatidos em matadouros da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. Arq. Inst. Biol. 78, 425-428.

Damriyasa, I.M., Bauer, C., Edelhofer, R., Failing, K., Lind, P., Petersen, E., Schares, G., Tenter, A.M., Volmer, R., Zahner, H., 2004. Cross-section survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. Vet. Parasitol. 126, 271-286.

Dubey, J.P., Beattie, C.P. (Eds.), 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press, Florida, 220 pp.

Dubey, J.P., 1988a. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. Am. J. Vet. Res. 49, 910-913.

Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J., Uggla, A., 1988b. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192, 1269–1285.

Dubey, J.P., Weigel, R.M., Seigel, A.M., Kitron, U.D., Mannelli, A., 1995. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *J. Parasitol.* 81, 736–741.

Dubey, J.P., Graham, D.H., Blackston, C.R., Lehmann, T., Gennari, S.M., Ragozo, A.M.A., Nishi, S.M., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Hill, D.E., Thulliez, P., 2002. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: Unexpected findings. *Int. J. Parasitol.* 32, 99–105.

Dubey, J.P., Shares, G., Ortega-Mora, L.M. 2007. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20, 323–367.

Dubey, J.P., 2009. Toxoplasmosis in pigs: the last 20 years. *Vet. Parasitol.* 164, 89–103.

Dubey, J.P., Hill, D.E., Rozeboom, D.W., Rajendran, C., Choudharya, S., Ferreira, L.R., Kwok, O.C.H., Su, C., 2012. High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from organic pigs in northern USA. *Vet. Parasitol.* 188, 14–18.

Du, F., Qingli, Z., Qian, Y., Min, H., Yanqin, Z., Junlong, Z., 2012. Soil contamination of *Toxoplasma gondii* oocysts in pig farms in central China. *Vet. Parasitol.* 187, 53–56.

Forbes, L.B., Parker, S.E., Gajadhar, A.A., 2012. Performance of commercial ELISA and agglutination test kits for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in serum and muscle fluid of swine infected with 100, 300, 500 or 1000 oocysts. *Vet. Parasitol.* 190, 362–367.

Frazão-Teixeira, E., Oliveira, F.C.R., Pelissari-Sant'Ana, V., Lopes, C.W.G., 2006. *Toxoplasma gondii* em encéfalos de suínos comercializados no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 15, 33–36.

Garcia, J.L., Navarro, I.T., Ogawa, L., Oliveira, R.C., 1999. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brazil. Ciên. Rural 29, 99-104.

Gardner, I.A., Greiner, M., Dubey, J.P., 2010. Statistical evaluation of test accuracy studies for *Toxoplasma gondii* in food animal intermediate hosts. Zoon. Publ. Health 57, 82–94.

Giessen, J., Fonville, M., Bouwknecht, M., Langelaar, M., Vollema, A., 2007. Seroprevalence of *Trichinella spiralis* and *Toxoplasma gondii* in pigs from different housing systems in the Netherlands. Vet. Parasitol. 148, 371-374.

Giraldi, N., Freire, R.L., Navarro, I.T., Viotti, N.M.A., Bueno, S.G., Vidotto, O., 1996. Estudo da toxoplasmose congênita natural em granjas de suínos em Londrina, PR. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 48, 83-90.

Helmick, B., Otter, A., McGarry, J., Buxton, D., 2002. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. Res. Vet. Sci. 73, 187-189.

Hosmer D.W. & Lemeshow S. 2000. Applied Logistic Regression. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.

King, J.S., Slapeta, J., Jenkins, D.J., Al-Qassab, S.E., Ellis, J.T., Windsor, P.A., 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 40, 945-950.

Klun, I., Marija, V., Year, H., Nikolić, A., Ivović, V., Bobić, B., Bradonjić, S., Dupouy-Camet, J., Djurković-Djaković, O., 2011. *Toxoplasma gondii* infection in slaughter pigs in Serbia: seroprevalence and demonstration of parasites in blood. *Vet. Res.* 46, 1-6.

Lopes, A.P., Dubey, J.P., Neto, F., Rodrigues, A., Martins, T., Rodrigues, M., Cardoso, L., 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. *Vet. Parasitol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.001>

Mendonça, A.O., Domingues, P.F., Silva, A.V., Pezerico, S.B., Langoni, H., 2004. Detection of *Toxoplasma gondii* in swine sausages. *Parasitol. Latinoam.* 59, 42-45.

Moura, A.B., Costa, A.J., Filho, S.J., Paim, B.B., Pinto, F.R., Mauro, D.C., 2007. *Toxoplasma gondii* in semen of experimentally infected swine. *Pesq. Vet. Bras.* 27, 430-434.

Oliveira, K.R., Domingues, P.F., Langoni, H., Silva, R.C., Gottschalk, S., 2007. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos criados sob condições rústicas na microrregião de Registro, SP, pelo método de aglutinação direta (MAD). *Vet. Zootec.* 14, 169-175.

Ortega-Pacheco, A., Acosta-Viana, K.Y., Guzman-Marin, E., Uitzil-Álvarez, B., Rodríguez-Buenfil, J.C., Jimenez-Coello, M., 2011. Infection dynamic of *Toxoplasma gondii* in two fattening pig farms exposed to high and low cat density in an endemic region. *Vet. Parasitol.* 175, 367-371.

Pena, H.F.J., Gennari, S.M., Dubey, J.P., Su, C., 2008. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *Int. J. Parasitol.* 38, 561-569.

Ragozo, A.M.A., Pena, H.F.J., Yai, L.E.O., Su, C., Gennari, S.M., 2010. Genetic diversity among *Toxoplasma gondii* isolates of small ruminants from Brazil: novel genotypes revealed. *Vet. Parasitol.* 170, 307-312.

Santos, C.B.A., Carvalho, A.C.F.B., Ragozo, A.M.A., Soares, R.M., Amaku, M., Yai, L.E.O., Dubey, J.P., Gennari, S.M., 2005. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 131, 207–211.

Silva, D.S., Bahia-Oliveira, L.M., Shen, S.K., Kwok, O.C., Lehman, T., Dubey, J.P., 2003. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J. Parasitol.* 89, 394-396.

Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217-1258.

Thrusfield, M. (Ed.), 1995. *Veterinary Epidemiology*. Blackwell Science, Cambridge 479 pp.

Tsutsui, V.S., Navarro, I.T., Freire, R.L., Freitas, J.C., Prudencio, L.B., Delbem, A.C.B., Marana, E.R.M., 2003. Soroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná, Brasil. *Arch. Vet. Sci.* 8, 27-34.

Valença, R.M.B., Mota, R.A., Mota, R.A., Anderlini, G.A., Guerra, M.M.P., 2011. Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas. *Pesq. Vet. Bras.* 31, 121-126.

Villari, S., Vesgo, G., Petersen, E., Cispo, A., Buffolano, W., 2009. Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. *Vet. Parasitol.* 161, 1-8.

Villena, I., Durand, B., Aubert, D., Blaga, R., Geers, R., Thomas, M., Perret, C., Alliot, A., Escotte-Binet, S., Thébault, A., Boireau, P., Halos, L., 2012. New strategy for the survey of *Toxoplasma gondii* in meat for human consumption. *Vet. Parasitol.* 183, 203-208.

Zar J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que os felinos domésticos e suínos da Paraíba apresentam alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii*, o fator de risco relacionado à infecção em gatos está ligado ao comportamento desses felinos, e os relacionados aos suínos estão diretamente ligados ao manejo desses animais.

Anticorpos anti-*N. caninum* não foram encontrados nos gatos domésticos e nos suínos a prevalência desses anticorpos foi baixa, porém não se sabe qual importância desse agente nessas espécies.

ANEXO

**QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PROPRIETÁRIOS DOS GATOS
DOMICILIADOS**

Nome do animal:
Nome do proprietário:
Endereço:
Sexo: <input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/> Fêmea
Idade:
Tipo de Alimentação: <input type="checkbox"/> Ração <input type="checkbox"/> Outra _____
Acesso a rua? <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim _____
Ambiente em que o animal vive? <input type="checkbox"/> Piso <input type="checkbox"/> Grama/ Solo
Outros gatos na casa? <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
Há ratos em sua residência? <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
Onde o animal defeca? <input type="checkbox"/> Caixa de areia <input type="checkbox"/> Na rua
O animal tem o hábito de caçar? <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim

Questionário Epidemiológico para coleta de dados de suínos de matadouro

1. DADOS DO PROPRIETÁRIO
Nome:
Telefone:
Já ouviu falar ou sabe o que é Toxoplasmose? () SIM () NÃO
2. DADOS DO SUÍNO
Sexo: () Macho () Fêmea
Idade:
Já sofreu casos de abortamento? () SIM () NÃO
3. MANEJO
Tipo de criação: () Intensiva () Extensiva
Alimentação: () Ração comercial () Restos de comida
Quantidade de suínos na propriedade:
Presença de gatos na propriedade?
Tem contato com outros animais? () SIM () NÃO
Se tem, quais são? () Cães () Bovinos () Equídeos () Silvestres () Caprinos () Ovinos () Galinhas
Qual o ambiente onde o animal é criado? () terra () cimento () terra/cimento
É realizada limpeza ou desinfecção do local? () SIM () NÃO
Com que frequência? () Diária () Semanal () Quinzenal () Mensal
O animal tomou alguma vacina? () SIM () NÃO
Se sim, quais?
4. OUTRAS INFORMAÇÕES

Research in Veterinary Science

Research in Veterinary Science publishes original contributions and review articles on research concerning the health and disease of animals, including studies in comparative medicine.

Types of contribution

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Short Communications
3. Review articles

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Short Communications should not exceed 1600 words and include no more than two tables or figures. They should have an abstract but no other divisions. Typescripts should be clearly marked Short Communication.

Review articles Review articles on veterinary topics are invited for publication. They should give an update on recent advances in a particular field and be targeted at research veterinarians who are not necessarily working in the same field. The length should not exceed 4000 words.

Submission of manuscripts

Submission to *Research in Veterinary Science* now proceeds online via Elsevier Editorial System - <http://ees.elsevier.com/rvsc>. Authors will be guided step-by-step through uploading files directly from their computers. Authors should select a set of classifications for their papers from a given list, as well as a category designation (Original Research Paper, Short Communication, and so on). Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing.

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Authors submitting hard copy papers will be asked to resubmit using Elsevier Editorial System.

Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation

of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Language Editing: [Elsevier's Authors Home](#) provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. For more information about language editing services, please email authorsupport@elsevier.com.

Ethics

Before papers describing animal studies are accepted for publication in *Research in Veterinary Science*, the authors must satisfy the editors that the work conformed to appropriate ethical standards. Whether or not a particular piece of work is accepted for publication will be decided by the editors whose decision will be final.

The authors should provide written assurances that: (i) The project underwent ethical review and was given approval by an institutional animal care and use committee or by appropriately qualified scientific and lay colleagues. (ii) The care and use of experimental animals complied with local animal welfare laws, guidelines and policies.

The editors expect authors to have adhered to the following general principles: (i) Alternative procedures that replace the use of animals should be used if possible. Where this is not possible, the animals used should be carefully selected to be the least sentient species possible and of an appropriate strain. (ii) The minimum number of animals should be used consistent with achieving the scientific objectives of the study. (iii) Pain and distress should be minimised by the use of humane endpoints, sedation, anaesthesia, analgesia and post-operative care. (iv) Access to veterinary care must be available at all times. (v) Investigators and personnel that care for and use animals must be trained and possess relevant expertise and training that should be updated regularly. (vi) If animals have to be killed, this should be done humanely according to local euthanasia regulations, such as the Home Office guidelines in the UK or guidelines of the American Veterinary Association Panel on Euthanasia.

Title

Papers should be headed with the full title, the initials and surnames of the authors, and the name and address of the institution where the work was carried out. The full telephone number, Fax number and e-mail address of the corresponding author should also be provided.

Form of Papers

- a) Abstract (not more than 150 words), self-contained and embodying the main conclusions. It should note the relevance to veterinary science as well as the aims and objectives of the work. Sentences such as 'the results are discussed', which merely describe the paper, are not allowed.
- b) Keywords. Please supply a list of up to six keywords that describe the paper.
- c) Introduction.
- d) Materials and methods employed.
- e) Results, as concise as possible. Text, tables and figures illustrating the same data will rarely be permitted.
- f) Discussion and conclusions.
- g) Acknowledgements.
- h) References.
- i) Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing**, throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscripts, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

Abbreviation and symbols: Authors are asked to explain each scientific abbreviation at its first occurrence in their papers; for example, complement fixation test (CFT). The policy of the journal with respect to units and symbols is that SI (System International) symbols should be used.

References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.

2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary - by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al." This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on author's names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one co-author - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.
5. Use the following system for arranging your references:
 - a. For periodicals
Minamoto, T., Honjo, M.N., Yamanaka, H., Tanaka, N., Itayama, T., Kawabata, Z., 2011. Detection of cyprinid herpesvirus-3 DNA in lake plankton. *Research in Veterinary Science* 90, 530-532.
Castillo, V.A., Gomez, N.V., Lalia, J.C., Cabrera Blatter, M.F., Garc?a, J.D., 2008a. Cushing's disease in dogs: Cabergoline treatment. *Research in Veterinary Science* 85, 26-34.
 - b. For books
Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 344 pp.
 - c. For multi-author books
Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215-2246.
6. Please do not abbreviate the journal title names e.g. *Research in Veterinary Science* and not *Res Vet Sci*.
7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.
8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".
9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.
10. Web references may be given. As a minimum, the full URL is necessary. Any further information, such as Author names, dates, reference to a source publication and so on, should also be given.
11. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

Illustrations

1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted as separate files, preferably in TIFF or EPS format.
2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.
3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. Any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.
5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
6. Each illustration should have a caption. The captions to all illustrations should be typed on a separate sheet of the manuscript.
7. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.
8. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.
9. If you submit usable colour figures, Elsevier would ensure that these figures appeared free-of-charge in colour in the electronic version of your accepted paper, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you would receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.

Please note that because of technical complications which may arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version, should you not opt for colour in print), you should submit in addition usable black and white figures corresponding to all colour illustrations. 10. Advice on the preparation of illustrations can be found at the following URL: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

Preparation of supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.
2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.
5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/permissions>. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

Authors Rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)
- post a pre-print version of the article on Internet websites including electronic pre-print servers, and to retain indefinitely such version on such servers or sites
- post a revised personal version of the final text of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or institutional website or server, with a link to the journal homepage (on elsevier.com)
- present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such a meeting
- for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for other intra-company use (e.g., training)
- retain patent and trademark rights and rights to any processes or procedure described in the article

- include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially)
- use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of your article in the journal)
- prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Author Enquiries

For enquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit the journal's homepage at <http://www.elsevier.com/locate/rvsc>. This also provides the facility to track accepted articles and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, are provided after registration of an article for publication.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

Research in Veterinary Science has no page charges

Veterinary Parasitology

Types of contributions

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Rapid Communications
4. Short Communications
5. Letters to the Editor
6. Book Reviews

***Original research papers* should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.**

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

Rapid Communications should contain information of high 'news/scientific value worthy of very rapid publication. Rapid Communications should be submitted to the journal as such (i.e. clearly labelled as a RC) and should, in general, not exceed 2000 words in length. Upon receipt, they will be subject to rapid assessment and if accepted, published with priority.

Short Communications should consist of original observations or new methods within the scope of the journal. Reports of observations previously published from different geographical areas may be accepted only if considered sufficiently unusual or noteworthy. The Communications should be concise with the minimum of references, and cover no more than four pages of the journal; they need not be formally structured as are full papers, but should give sufficient methods and data necessary for their comprehension.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old and were written in English.

Book reviews will be solicited by the Book Review Editor (unsolicited reviews will not usually be accepted), but the position is currently vacant (following Dr Borgsteede's retirement) and a new Editor will be appointed shortly.

Submission of manuscripts

Submission to *Veterinary Parasitology* now proceeds online via Elsevier Editorial System - <http://ees.elsevier.com/vetpar>. Authors will be guided step-by-step through uploading files directly from their computers. Authors should select a set of classifications for their papers from a given list, as well as a category designation (Original Research Paper, Short Communication, and so on). Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing. Authors are invited to suggest the names of up to 5 referees (with email addresses) whom they feel are qualified to evaluate their submission. Submission of such names does not, however, imply that they will definitely be used as referees.

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Authors submitting hard copy papers will be asked to resubmit using Elsevier Editorial System. Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in the acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Ethics

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. They are obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland, or at the following URL:

http://www.cioms.ch/publications/guidelines/1985_texts_of_guidelines.htm.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Veterinary Parasitology*.

Preparation of manuscripts

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Language Editing: [Elsevier's Authors Home](#) provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. Authors should also be aware that *The Lucidus Consultancy* edit@lucidusconsultancy.com offers a bespoke service to putative contributors to *Veterinary Parasitology* who need to arrange language improvement for their manuscripts. For more information about language editing services, please email authorsupport@elsevier.com.

Please note that Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our terms & conditions:

<http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

2. Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

3. Manuscripts in general should be organized in the following order:
Title (should be clear, descriptive and not too long)

Name(s) of author(s)
 Complete postal address(es) of affiliations
 Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author
 Present address(es) of author(s) if applicable
 Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to last index

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgments and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions

Tables (separate file(s))

Figures (separate file(s)).

4. Titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type.

5. SI units should be used.

6. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.

3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.

4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.

5. Each table should have a brief and self-explanatory title.

6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.

7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.

8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Illustrations

1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted as separate files, preferably in TIFF or EPS format.

2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.

3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.

4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. Any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.

5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.

6. Each illustration should have a caption. The captions to all illustrations should be typed on a separate sheet of the manuscript.

7. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.

8. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.

9. If you submit usable colour figures, Elsevier would ensure that these figures appeared free-of-charge in colour in the electronic version of your accepted paper, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you would receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.

Please note that because of technical complications which may arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version, should you not opt for colour in print), you should submit in addition usable black and white figures corresponding to all colour illustrations.

10. Advice on the preparation of illustrations can be found at the following URL: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

Preparation of supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published free of charge online alongside the electronic version of your a Elsevier web products, including ScienceDirect: ⇨ <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one recommended file formats. Authors should submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

References

- All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
- In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed – if necessary – by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12–16)".
- If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
- References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on author's names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates – publications of the same author with one co-author – publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.
- Use the following system for arranging your references:
 - For periodicals*
Lanusse, C.E., Prichard, R.K., 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.* 49, 123–158.
 - For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical*
Weatherley, A.J., Hong, C., Harris, T.J., Smith, D.G., Hammet, N.C., 1993. Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. In: Vercruyse, J. (Ed.), *Doramectin – a novel avermectin*. *Vet. Parasitol.* 49, 45–50.
 - For books*
Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 344 pp.
 - For multi-author books*
Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215–224.
- Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references in accordance with BIOSIS Serial Sources, published annually by BIOSIS. The correct abbreviation for this journal is *Vet.Parasitol*.
- In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.
- Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.
10. Web references may be given. As a minimum, the full URL is necessary. Any further information, such as Author names, dates, reference to a source publication and so on, should also be given.
11. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.
2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.
3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.
4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.
5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺, not as Ca⁺⁺.
6. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ¹⁸O.
7. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P₂O₅).

Footnotes

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information into the normal text.
2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.
2. All botica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.
5. For the denomination of parasitic diseases or infections, authors are requested to follow the Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD) published in 1988 in *Veterinary Parasitology* (Kassai, T. et al., 1988. *Vet. Parasitol.* 29, 299–326).

Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/perm>. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published permission has been obtained.

Authors Rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)

- post a pre-print version of the article on Internet websites including electronic pre-print servers, and to retain indefinitely such version on such servers or sites
- post a revised personal version of the final text of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or institutional website or server, with a link to the journal homepage (on elsevier.com)
- present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such a meeting
- for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for other intra-company use (e.g., training)
- retain patent and trademark rights and rights to any processes or procedure described in the article
- include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially)
- use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of your article in the journal)
- prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which will be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site:

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Author Services

Questions arising after acceptance of the manuscript, especially those relating to proofs, should be directed to Elsevier Ireland, Elsevier House, Brookvale Plaza, East Park, Shannon, Co. Clare, Ireland, Tel.: (+353) 61 709600, Fax: (+353) 61 709111/113, authorsupport@elsevier.com. Authors can also keep a track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage

<http://www.elsevier.com/locate/vetpar>

For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

***Veterinary Parasitology* has no page charges**