



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CAMPINA GRANDE

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

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS E  
PARASITÁRIAS DA ESFERA REPRODUTIVA EM BÚFALOS (*BUBALUS  
BUBALIS*) NA PARAÍBA**

**Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária do Centro de  
Saúde e Tecnologia Rural da  
Universidade Federal de Campina  
Grande, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em  
Medicina Veterinária.**

**ARTHUR WILLIAN DE LIMA BRASIL**  
**PATOS-PB**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CAMPINA GRANDE

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

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS E  
PARASITÁRIAS DA ESFERA REPRODUTIVA EM BÚFALOS (*BUBALUS*  
*BUBALIS*) NA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária do Centro de  
Saúde e Tecnologia Rural da  
Universidade Federal de Campina  
Grande, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em  
Medicina Veterinária.

ARTHUR WILLIAN DE LIMA BRASIL  
Orientador: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo  
PATOS-PB

## FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

B823e      Brasil, Arthur Willian de Lima

Estudo epidemiológico de doenças infecciosas e parasitárias da esfera reprodutiva em búfalos (*Bubalus bubalis*) na Paraíba / Arthur Willian de Lima Brasil. – Patos, 2014.

56f.: il.

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

“Orientação: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo”

Referências.

1. Brucelose. 2. Búfalo. 3. Leptospirose I. Título.

CDU 616-036.22

**ARTHUR WILLIAN DE LIMA BRASIL**  
**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE DOENÇAS DA ESFERA REPRODUTIVA**  
**EM BÚFALOS (*BUBALUS BUBALIS*) NA PARAÍBA**

**FICHA DE AVALIAÇÃO**

Aprovada em: \_\_/\_\_/\_\_

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

---

Dra. Carolina de Sousa Américo Batista Santos  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

---

Prof. Dr. Sidnei Miyoshi Sakamoto  
Departamento de Ciências Animais - UFERSA

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a DEUS, por ter me trazido até aqui, por ter me dado vida, saúde, sabedoria, iluminação e por ter me dado a satisfação de conhecer e conviver com pessoas tão maravilhosas.

Agradeço a minha família, meu pai (Aderso Brasil Valente) e minha Mãe (Maria Ziza Gonçalves de Lima Brasil), e meus irmãos André e Carol por todo apoio e dedicação que me deram durante toda vida.

A Roberta Parentoni, minha noiva, ela como braço direito da pesquisa me motivou e me ajudou em todos os momentos te amo!!!

Ao meu orientador, prof. Sérgio Santos de Azevedo, pela atenção, e compromisso. Exemplo de professor, pesquisador e orientador, é realmente um grande profissional, só tenho a agradecer a oportunidade e os conhecimentos que me passou.

Aos meus amigos/equipe de trabalho Diego Costa, Carla Pimenta, Thais Feitosa, Vinicius Longo, Bruno Leal, Leonardo Moreira, Leise Fernandes, Rafael Pádua, Olawo Felix, Dona Francinete que com certeza foram fundamentais para executar esta pesquisa, obrigada pessoal por todo o desempenho e compromisso.

A Dra. Hilda da USP que preparou com toda dedicação as lâminas para realização dos exames da RIFI.

Aos professores, Pedro Isidro, Almir Pereira, Eldinê Miranda, Clebert Alves pelos conselhos e orientações nas horas de indecisões e dificuldade vocês foram grandes mestres.

Ao apoio que os funcionários da SEDAP de cada ULSAV, Inácio Clementino, Samuel, Ana Leticia, Marcio, Marcelo, Itália, Nuhara, Kaline, Dona Sonia. Que me ofereceram todo o suporte técnico para a realização da pesquisa a campo.

A todos os produtores que permitiram que o nosso trabalho fosse realizado da melhor forma possível a todos meu muito obrigado

Aos meus amigos de graduação que perduraram no mestrado, Jefferson, Rafaela, Talita, Jeann. A vocês todos levo comigo um carinho muito grande.

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi determinar a frequência de anticorpos e os fatores de risco para brucelose, leptospirose, toxoplasmose e neosporose em búfalos do Estado da Paraíba. Foram utilizados 136 búfalos oriundos de 14 propriedades. Para o diagnóstico da brucelose empregou-se como teste de triagem o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o teste do 2-mercaptoetanol (2-ME) como prova confirmatória. Para leptospirose foi realizado o teste de soroprecipitação microscópica (SAM) com ponto de corte 1:100. Para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* foi empregada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com ponto de corte 1:64 para toxoplasmose e 1:200 para neosporose. As frequências de animais soropositivos para leptospirose, brucelose, toxoplasmose e neosporose foram de 27,9%, 1,5%, 12,5% e 19,1%, respectivamente, enquanto que as frequências de propriedades positivas foram de 64,3%, 14,3%, 71,4% e 71,4%, respectivamente. Não foram identificados fatores de risco para leptospirose e brucelose, no entanto, criação semi-intensiva (*odds ratio* = 2,99; IC 95% = 0,99 - 8,98) e presença de suínos (*odds ratio* = 4,33; IC 95% = 1,34 - 13,98) foram identificados como fatores de risco para toxoplasmose e neosporose, respectivamente. Uma vez que a brucelose é alvo de controle oficial em bovinos no Brasil, a presença de búfalos positivos indica a possibilidade de impacto negativo nas ações de controle da doença em bovinos, e dessa forma recomenda-se que maior atenção seja dada a esses animais do ponto de vista do controle da brucelose. Com relação à leptospirose, sugere-se que a criação consorciada com equinos e suínos pode ser um fator importante na ocorrência de animais positivos. Baseado nas análises de fatores de risco sugere-se a necessidade de mais estudos acerca da importância de *T. gondii* e *N. caninum* em búfalos e em suínos, bem como da influência do tipo de criação na ocorrência de animais soropositivos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Brucelose, Leptospirose, Toxoplasmose, Neosporose, Búfalo, Nordeste do Brasil.

## ABSTRACT

The aim of this work was to determine the frequency of antibodies and the risk factors for brucellosis, leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis in buffaloes of Paraíba State. One hundred thirty-six buffaloes from 14 herds were used. For the diagnosis of brucellosis the Buffered Acidified Plate Antigen (BAPA) test was applied as screening test and the 2-mercaptoethanol (2-ME) test as confirmatory test. For leptospirosis the microscopic agglutination test (MAT) was performed with the dilution 1:100 as cutoff-point. For the detection of anti-*T. gondii* and anti-*N. caninum* antibodies the indirect fluorescent antibody test (IFAT) was used. The frequency of seropositive animals for leptospirosis, brucellosis, toxoplasmosis and neosporosis were 27.9%, 1.5%, 12.5% and 19.1%, respectively, while the frequencies of positive properties were 64.3%, 14.3%, 71.4% and 71.4%, respectively. There were no risk factors for leptospirosis and brucellosis, however, semi-intensive farming (odds ratio = 2.99, 95% CI = 0.99 to 8.98) and presence of pigs (odds ratio = 4.33; 95% CI = 1.34 to 13.98) were identified as risk factors for toxoplasmosis and neosporosis, respectively. Since brucellosis is subject to official control in cattle in Brazil, the presence of positive buffaloes indicates the possibility of negative impact on efforts to control the disease in cattle, and thus it is recommended that more attention be given to these animals in the control of brucellosis. Related to leptospirosis, it is suggested that the raising with horses and pigs may be an important factor in the occurrence of positive animals. Based on the analysis of risk factors it is suggest the need for further works on the importance of *T. gondii* and *N. caninum* in water buffaloes and pigs as well as the influence of the type of farming in the occurrence of seropositive animals.

**KEY WORDS:** Brucellosis, Leptospirosis, Toxoplasmosis, Neosporosis, Buffalo, Northeastern Brazil.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	11
REFERÊNCIAS .....	12
CAPITULO I:.....	13
Brucelose e leptospirose em búfalos da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco ....	13
INTRODUÇÃO .....	15
MATERIAL E MÉTODOS .....	17
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
REFERÊNCIAS .....	21
CAPITULO II: .....	26
Toxoplasmose e neosporose em búfalos da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco .....	26
INTRODUÇÃO .....	28
MATERIAS E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS .....	32
DISCUSSÃO.....	35
REFERÊNCIAS .....	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	40
ANEXO I .....	41
ANEXO II .....	43
ANEXO III.....	48

## LISTA DE QUADRO E TABELAS

### CAPÍTULO I

Quadro 1. Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Brucella abortus* em búfalas do Estado da Paraíba, de acordo com os municípios e propriedades rurais, no período de novembro de 2012 a julho de 2013.....25

Quadro 2. Sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentes em bubalinos reagentes na soroglutinação microscópica no Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho de 2013.....26

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Resultados da análise univariável com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,2$ ) à soropositividade para *T. gondii* em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho 2013.....35

Tabela 2. Resultados da análise univariável com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,2$ ) à soropositividade para *N. caninum* em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho 2013.....36

Tabela 3. Fatores de risco para infecção por *T.gondii* e *N. caninum* em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho 2013.....36

## **LISTA DE FIGURAS**

### **CAPÍTULO I**

Figura 1. Mapa do estado da Paraíba demonstrando os municípios e as propriedades selecionadas.....27

### **CAPÍTULO II**

Figura 1. Mapa do estado da Paraíba demonstrando os municípios e as propriedades selecionadas.....32

## LISTA DE ABREVIATURAS

RBPT	Rose Bengal Plate Test
%	Por cento
≤	Menor ou igual
2-ME	2-mercaptoethanol
AAT	Antígeno Acidificado Tamponado
CSTR	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
IC	Intervalo de confiança
IFAT	Indirect Fluorescent Antibody Test
LDPAD	Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos
LDT	Laboratório de Doenças Transmissíveis
MAT	Microscopic Agglutination Test
Mm	Milímetros
<i>N. caninum</i>	<i>Neospora caninum</i>
Nº	Número
°C	Grau Celsius
OR	Odds Ratio
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
SALT	Teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos
SAM	Soroaglutinação microscópica
	Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e Pesca da
SEDAP	Paraíba
<i>T.gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande

## INTRODUÇÃO GERAL

Reconhecido pela sua rusticidade, tolerância e resistência a doenças infecciosas e parasitárias, os búfalos são mais adaptados que os bovinos a condições ambientais adversas (TONHATI et al., 2011). Devido ao conhecimento limitado, leva-se a crer que as práticas de manejo desses animais são iguais as dos bovinos, todavia, soluções empregadas para sistemas de bovinocultura podem não surtir o mesmo efeito na produção de bubalinos (LEITE e BASTIANETTO, 2009).

O mercado consumidor dos produtos cárneos e lácteos oriundos de bubalinos vem aumentando a cada ano sendo necessário um incremento na produção (JORGE, 2004). Como consequência do acréscimo produtivo proveniente da introdução de novos animais no rebanho, do aumento da população e da aglomeração de animais, o surgimento de doenças infecciosas é inevitável, que por sua vez trazem uma série de prejuízos econômicos aos produtores rurais (LEITE e BASTIANETTO, 2009).

Os bubalinos são susceptíveis a várias doenças infecciosas semelhantes aos bovinos, existindo assim uma necessidade de investigação epidemiológica sobre essas doenças, dentre as quais podemos destacar aquelas que afetam o sistema reprodutivo, como brucelose, leptospirose (GALIERO, 2007). Pouco se sabe sobre as implicações da toxoplasmose e da neosporose na esfera reprodutiva de búfalos, contudo, *N. caninum* já foi isolado de fetos, indicando que este agente pode ser causador de abortamentos nesta espécie (CHRYSSAFIDIS et al. 2011).

A presente dissertação é composta por dois capítulos. O primeiro capítulo é composto por um artigo cujo objetivo foi determinar a frequência de anticorpos e os fatores de risco para brucelose e leptospirose em búfalos na Paraíba, e foi submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira. O segundo capítulo é composto por artigo que teve como objetivos determinar a frequência de anticorpos e os fatores de risco associados à ocorrência de toxoplasmose e de neosporose em búfalos da Paraíba, e foi submetido ao periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

## REFERÊNCIAS

CHRYSSAFIDIS, A. L.; SOARES, R. M.; RODRIGUES, A. A. R. et al. Evidence of congenital transmission of *Neospora caninum* in naturally infected water buffalo (*Bubalus bubalis*) fetus from Brazil. *Parasitol. Res.* v. 108, p.741–743, 2011.

GALIERO, G. Causes of infectious abortion in the Mediterranean buffalo. *Ital. J. Anim. Sci.* v. 6, suppl. 2, 194-199, 2007.

JORGE, A. M. Programa de qualidade na produção de carne de búfalos. In: I SIMPÓSIO DO NÚCLEO DE ESTUDOS EM BOVINOCULTURA UFRRJ ANAIS... Niterói, 2004 (resumo).

LEITE, C.R.; BASTIANETTO, E.; Doenças Infecciosas em Búfalos. VIII Congresso Brasileiro de Buiatria – anais Suplemento 1, 2009.

TONHATI, H.; ASPILCUETA-BORQUIS, R. R.; DE CAMARGO, G. M. F.; HURTADO-LUGO, N. A. Inovação no Manejo de Búfalos. XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia, Maceió, 2011.

**CAPITULO I:**

**Brucelose e leptospirose em búfalos da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco**

Artigo submetida à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

(Qualis A2)

## **Brucelose e leptospirose em búfalos da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco<sup>1</sup>**

Arthur W. L. Brasil<sup>2</sup>, Roberta N. Parentoni<sup>2</sup>, Diego F. Costa<sup>2</sup>, Carla L. R. M. Pimenta<sup>2</sup>,  
Rafael P. Araújo<sup>2</sup>, Antônio B. G. Leal<sup>2</sup>, Clebert J. Alves<sup>2</sup>, Sérgio S. Azevedo<sup>2\*</sup>.

**Abstract.-** Brasil A.W.L., Parentoni R.N., Costa D.C., Pimenta C.L.R.M., Araújo R.P., Alves C.J., Leal B.A.G & Azevedo S.S. 2014. [**Brucellosis and leptospirosis in buffaloes from Paraíba State: occurrence of antibodies and risk factors.**] Brucelose e leptospirose em búfalos da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00. Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária s/n, Patos, PB 58700-970, Brazil. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

The aim of this survey was to determine the frequency of antibodies and the risk factors for brucellosis and leptospirosis in buffaloes from Paraíba State. One hundred thirty-six buffaloes from 14 herds were used. For the diagnosis of brucellosis the Buffered Acidified Plate Antigen (BAPA) test was applied as screening test and the 2-mercaptoethanol (2-ME) test as confirmatory test. For leptospirosis the microscopic agglutination test (MAT) was performed with the dilution 1:100 as cutoff-point. Of the 136 samples analyzed two (1.5%) were positive for brucellosis and 38 (27.9%) for leptospirosis. Positive animals for brucellosis were from two (14.3%) herds, while for leptospirosis nine (64.3%) herds showed positive animals. The most frequent *Leptospira* spp. serovars were Bratislava, Pomona and Canicola. It is concluded that leptospirosis is widespread in buffaloes from Paraíba State, and it is suggested that the raising with horses and pigs may be an important factor in the occurrence of positive animals. The presence of positive animals for brucellosis indicates the possibility of negative impact on efforts to control the disease in cattle, and thus it is recommended that more attention be given to these animals in the control of brucellosis.

---

<sup>1</sup>Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

<sup>2</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária s/n, Patos, PB 58700-970, Brazil. \*Autor para correspondência: sergio@vps.fmvz.usp.br

INDEX TERMS: *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., buffalo, seroepidemiology, Northeastern Brazil.

**Resumo.-** O objetivo do trabalho foi determinar a frequência de anticorpos e os fatores de risco para brucelose e leptospirose em búfalos do Estado da Paraíba. Foram utilizados 136 búfalos oriundos de 14 propriedades. Para o diagnóstico da brucelose empregou-se como teste de triagem o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o teste do 2-mercaptoetanol (2-ME) como prova confirmatória. Para leptospirose foi realizado o teste de soroprecipitação microscópica (SAM) com ponto de corte 1:100. Das 136 amostras analisadas duas (1,5%) foram positivas para brucelose e 38 (27,9%) para leptospirose. Os animais positivos para brucelose foram procedentes de duas (14,3%) propriedades, enquanto que para leptospirose nove (64,3%) propriedades apresentaram animais soropositivos. Os sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentes foram Bratislava, Pomona e Canicola. Conclui-se que a leptospirose encontra-se disseminada em búfalos do Estado da Paraíba, e sugere-se que a criação consorciada com equinos e suínos pode ser um fator importante na ocorrência de animais positivos. A presença de animais positivos para brucelose indica a possibilidade de impacto negativo nas ações de controle da doença em bovinos, e dessa forma recomenda-se que maior atenção seja dada a esses animais do ponto de vista do controle da brucelose.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., búfalo, seroepidemiologia, Nordeste do Brasil.

## INTRODUÇÃO

Reconhecido pela sua rusticidade, tolerância e resistência a doenças infecciosas e parasitárias, os búfalos são mais adaptados que os bovinos a condições ambientais adversas. Por serem animais versáteis, tornaram-se excelente alternativa para a pecuária nacional, visto que possuem tripla aptidão (produção de leite, produção de carne e tração), além de serem facilmente adaptados a ambientes hostis, como terras inundáveis, áreas costeiras, montanhas e planícies (Tonhati et al. 2011).

Atualmente o Brasil possui posição de destaque na criação de búfalos e conta com um efetivo de mais de um milhão de cabeças, das quais o Nordeste possui por volta

de 122 mil animais. No Estado da Paraíba, o efetivo bubalino conta com um total de aproximadamente 933 animais (Brasil 2012).

O aumento da produtividade e da tecnificação na bubalinocultura favorecem a introdução de doenças infecciosas nos rebanhos em decorrência de alterações de manejo, aumento da densidade animal e confinamento (Leite & Bastianetto 2009). Nesse contexto, assume importância a brucelose e a leptospirose, que são doenças zoonóticas responsáveis por perdas econômicas para a exploração de búfalos em decorrência de problemas reprodutivos.

A brucelose é uma zoonose causada pela *Brucella abortus*, que possui predileção pelo sistema reprodutor (Acha & Szyfres 2001, Paulin & Ferreira Neto 2008). A infecção está amplamente difundida em países em desenvolvimento (Ghodasara et al. 2010), e é responsável por prejuízos econômicos decorrentes de abortamentos, baixos índices reprodutivos, perda do prestígio das propriedades e restrições na comercialização de animais e de produtos de origem animal procedentes de áreas nas quais a doença ocorre (Paulin & Ferreira Neto 2008). Acredita-se que a brucelose é responsável pela diminuição de 25% na produção de leite e de carne, e pela redução de 15% na produção de bezerros (Paulin 2006). A via de transmissão mais frequente é o contato indireto por ingestão de água, pasto e forragens contaminados. Outra forma de transmissão frequente é o contato direto com fetos abortados e bezerros recém-nascidos infectados (Acha & Szyfres 2001, Paulin & Ferreira Neto 2008).

A leptospirose é a zoonose de maior distribuição mundial, presente em todos os continentes. As leptospiras são classificadas em 13 genomoespécies patogênicas com mais de 260 sorovares; e seis saprófitas, contendo mais de 60 sorovares. Em geral cada sorovar possui um hospedeiro mais adaptado, todavia podem infectar outros hospedeiros (Adler & Moctezuma 2010). A transmissão da doença se dá pelo contato direto ou indireto com urina, água, solo e fômites contaminados. A presença de roedores é vista como um fator de risco já que os mesmos se comportam como portadores renais sãos de leptospiras, eliminando-as no ambiente e contaminando solo e água (Adler & Moctezuma 2010). Na América latina apresenta-se de forma endêmica, o que ocasiona enormes prejuízos econômicos (Schmidt et al. 2002).

Nos bubalinos, semelhante aos bovinos, a leptospirose tem como principal consequência da infecção sistêmica os abortamentos, que geralmente ocorrem no terço final da gestação, causando morte fetal com ou sem degeneração placentária seguida de eliminação do feto semanas após a infecção (Faine et al. 1999).

No Brasil, nos últimos anos, a frequência de soropositividade para leptospirose bubalina foi relatada como variando de 37,7% a 80% (Langoni et al.1999, Viana et al. 2009); para brucelose, essa variação foi de 5,18% a 37,5% (Bastinetto et al. 2005, Chaves et al. 2012). Devido à inexistência de estudos sobre leptospirose e brucelose bubalina no Estado da Paraíba, o presente trabalho teve como objetivos determinar a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Brucella abortus* em búfalos do Estado da Paraíba, bem como identificar fatores de risco associados às infecções.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 14 propriedades com criação de búfalos no Estado da Paraíba, nos municípios de Alagoa Nova, Areia, Campina Grande, Guarabira, Juripiranga, Santa Helena, Sapé, Rio Tinto, Santana dos Garrotes, Itatuba, Solânea e Cacimbas (Fig. 1). Segundo dados Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e Pesca da Paraíba (SEDAP), o Estado conta com 17 propriedades e um efetivo de 872 animais.

A população estudada foi constituída por fêmeas bubalinas com aptidão para corte e leite, mestiças e da raça Murrah, com idade igual ou superior a 24 meses. Para o cálculo do número de animais a serem amostrados foi empregada a fórmula para amostragem aleatória simples:

$$n = \frac{Z^2 P(1 - P)}{d^2}$$

Onde:

n= número de propriedades amostradas

Z= valor da distribuição normal para o nível de confiança de 95%

P= prevalência esperada de 50% (para maximização da amostra)

D= erro de 10%

De acordo com o cálculo amostral, seriam necessários 96 animais. No total, foram selecionadas 136 fêmeas bubalinas com idade  $\geq$  24 meses procedentes de 14 propriedades. As amostras de sangue foram colhidas no período de novembro de 2012 a julho de 2013, por meio de venopunção da jugular, após antissepsia e com auxílio de agulha descartável 40 x 12 mm, sendo acondicionadas em tubos de ensaio estéreis que permaneceram inclinados e em repouso para facilitar a retração do coágulo. As amostras

foram centrifugadas durante 15 minutos e o soro obtido foi transferido para microtubos e armazenados à -20° C.

Durante a coleta das amostras foi aplicado questionário epidemiológico para obtenção de dados a serem utilizados na análise de fatores de risco. As variáveis e respectivas categorias utilizadas foram: tipo de criação (intensiva, semi-intensiva, extensiva), tipo de exploração (corte, leite, mista), tipo de ordenha (manual, mecânica ao pé, mecânica com sala de ordenha), número de ordenhas por dia (não ordenha, 1 vez ao dia, 2 vezes ao dia), raça predominante, outras espécies na propriedade (bovinos, equídeos, caprinos/ovinos, suínos, aves, cão, gato), espécies silvestres em vida livre na propriedade, ocorrência de abortamentos nos últimos 12 meses, presença de roedores, controle de roedores, alimentação com pastagem nativa, fonte de água (bebedouros, aguadas, rios, lagos, riachos, mananciais), realizar diagnóstico para brucelose, vacina contra brucelose, aquisição de animais, aluguel de pastos, presença de áreas alagadiças, presença de piquete de parição, separar animais jovens de adultos, resfriamento do leite, e assistência veterinária.

Para realização do diagnóstico da brucelose bubalina foi utilizado inicialmente o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como prova de triagem, e os soros que reagiram positivamente no mesmo foram submetidos à prova confirmatória do 2-mercaptoetanol (2-ME) (Brasil 2006). Paralelamente ao teste do 2-ME, foi realizado o teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SALT).

O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973), com coleção de antígenos vivos composta por 22 sorovares patogênicos e dois saprófitos: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc e Sentot. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo escuro previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de auto-aglutinação ou de contaminantes.

A análise de fatores de risco foi realizada em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, as variáveis que apresentaram valor de  $p \leq$

0,2 pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (Zar 1999) foram selecionadas e usadas na análise multivariável, utilizando-se a 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*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 14 propriedades amostradas duas (14,3%) apresentaram um animal soropositivo para brucelose cada, e em nove (64,3%) houve pelo menos um animal soropositivo para leptospirose (Quadro 1). Dos 136 animais avaliados 14 (10,3%) foram soropositivos para brucelose no teste do AAT, e dois (1,5%) foram soropositivos no teste confirmatório do 2-ME, com títulos de 25 e 200. Para leptospirose, 38 (27,9%) das 136 amostras foram soropositivas na SAM, com títulos variando de 100 a 3200. Os sorovares mais frequentes (Quadro 2) foram Bratislava (11%), Pomona (8,8%) e Canicola (5,9%). Também foram observadas reações para os sorovares Patoc (0,74%), Wolffi (0,74%) e Cynopteri (0,74%).

Com relação aos fatores de risco, não foi constatada associação entre nenhuma variável e a soropositividade para brucelose e leptospirose. Embora apenas dois animais tenham sido positivos para brucelose, este resultado apresenta importância considerável visto que a infecção é alvo de controle oficial, e que a presença de animais soropositivos pode garantir a persistência deste importante agente zoonótico nos rebanhos. Some-se a isso o fato de que foi observada criação consorciada de bovinos e bubalinos em algumas propriedades. Devido à possibilidade de transmissão da brucelose entre as espécies bovina e bubalina, não deve ser descartada a chance de impacto negativo na condução das estratégias de ação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina (PNCEBT), uma vez que as mesmas são direcionadas, no Estado da Paraíba, principalmente para bovinos. As duas propriedades positivas para brucelose estão localizadas nas mesorregiões do Agreste e Mata Paraibana, locais em que foi observada maior prevalência de brucelose bovina em comparação às mesorregiões do Sertão e da Borborema, no âmbito do inquérito epidemiológico realizado como parte do PNCEBT no Estado da Paraíba (dados não publicados).

Além da importância econômica, outro ponto que deve ser levado em consideração é que a ocorrência de búfalos positivos para brucelose implica em exposição de seres humanos ao risco da infecção em decorrência do consumo de produtos de origem animal, como leite e produtos lácteos. Borriello et al. (2006) referiu

um risco em potencial para os humanos no consumo de leite e produtos lácteos oriundos de bubalinos infectados com *Brucella abortus*.

Chaves et al. (2012), no Maranhão, e Calderón et al. (2010), na Colômbia, observaram prevalência de brucelose em bubalinos de 5,18% e 3%, respectivamente. A baixa frequência (1,5%) de brucelose observada no presente trabalho pode ser decorrência do conjunto de ações de controle da brucelose bovina conduzidas pelo serviço de defesa animal da Paraíba, incluindo a fiscalização de vacinações e controle de trânsito animal.

Já para leptospirose, as altas frequências de propriedades positivas e de animais soropositivos sugerem que o agente encontra-se disseminado nas criações de bubalinos no Estado. Langoni et al. (1999), avaliando 403 búfalas do Vale da Ribeira, São Paulo, observou prevalência de 37,7%, com destaque para os sorovares Wolffi, Icterohaemorrhagiae e Hadjo. Silva et al. (2009) analisaram soros de 127 búfalos da região nordeste do Pará e encontraram frequência de soropositividade de 67,72%, com destaque para os sorovares Hardjo, Grippotyphosa e Pomona. A ocorrência de elevadas frequências de positividade para leptospirose em búfalos pode ser reflexo da variedade de fatores que influenciam na ocorrência da doença, como as espécies animais de contato, manejo utilizado, sorovares existentes na região, condições climáticas e ambientais e as oportunidades de infecção direta ou indireta (Higino et al. 2012).

O sorovar Bratislava, apontado como o mais frequente, tem como hospedeiros mais adaptados os equinos e os suínos (Bolin 1996). Isso pode estar associado ao contato de bubalinos com equinos e suínos em criações consorciadas, o que de fato foi observado em algumas propriedades. Do ponto de vista de controle da leptospirose, o sorovar Bratislava como o mais frequente levanta preocupações, uma vez que nas vacinas comerciais anti-leptospirose para bubalinos são incluídos os sorovares Hardjo, Wolffi, Pomona, Grippothyphosa, Icterohaemorrhagiae e Canicola, e que não há proteção cruzada entre os sorovares.

O segundo sorovar mais frequente foi o Pomona, cujo hospedeiro de manutenção é o suíno (Faine et al. 1999), o que também sugere o contato dessas espécies em criações consorciadas. O sorovar Canicola, apontado como o terceiro mais frequente, geralmente é associado a cães como hospedeiros de manutenção (Faine et al. 1999). Com base nos questionários epidemiológicos, na maioria das propriedades havia a presença de cães, e em algumas delas esses animais eram utilizados no manejo dos búfalos, havendo assim a possibilidade de transmissão entre as espécies.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a leptospirose encontra-se disseminada em búfalos do Estado da Paraíba, e sugere-se que a criação consorciada com equinos e suínos pode ser um fator importante na ocorrência de animais positivos. A presença de animais positivos para brucelose indica a possibilidade de impacto negativo nas ações de controle da doença em bovinos, e dessa forma recomenda-se que maior atenção seja dada a esses animais do ponto de vista do controle da brucelose.

## REFERÊNCIAS

- Acha P.N. & Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Publicación Científica, Organización Panamericana de la Salud, Washington. 503p.
- Adler B. & Moctezuma A.P. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. Vet. Microbiol. 140 (3-4): 287-296.
- Bastianetto E., Amaral F.R., Carvalho L.B., Oliveira D.A.A. & Leite R.C. 2005. Brucelose em rebanhos de búfalos criados na região do Alto São Francisco Minas Gerais. Rev. Bras.Reprod. Anim. 29(1):55-56.
- Bolin C.A. 1996. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal) 3(11):166-171.
- Borriello G., Capparelli R., Bianco M., Fenizia D., Alfano F., Capuano F., Ercolini D., Parisi A., Roperto S. & Iannelli D. 2006. Genetic resistance to *Brucella abortus* in the water buffalo (*Bubalus bubalis*). Infect. Immun. 74(4):2115–2120.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). 2006. Manual Técnico. Brasília, DF. 188p.
- Brasil, Instituto Brasileiro e Geografia e Estatística (IBGE). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. 2012. Pesquisa da Pecuária Municipal, Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>. Acessado em: 11/12/2013.
- Calderón A., Tique V., Ensuncho C.F. & Rodriguez V. 2010. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) em el municipio de Lorica, Córdoba. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 13(2):125-132.

- Chaves N.P., Bezerra D.C., Santos L.S., Sá J.S., Santos H.P. & Pereira H.M. 2012. Intercorrência entre leucose enzoótica e brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em sistema de produção extensivo. *Pesq. Vet. Bras.* 32(2):131-134.
- Cole J.R., Sulzer C.R. & Pursell A.R. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl. Microbiol.* 25(6):970-980.
- Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. *Leptospira* and leptospirosis. Medisci, Melbourne. 272p.
- Galton M.M., Sulzer C.R., Santa Rosa C.A. & Fields M.J. 1965. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Appl. Microbiol.* 13(1):81-85.
- Ghudasara S.N., Ashish R. & Bhandari B.B. 2010. Comparison of rose bengal plate agglutination, standard tube agglutination and indirect ELISA tests for detection of *Brucella* antibodies in cows and buffaloes. *Vet. World* 3(2):61-64.
- Higino S.S.S., Alves C.J., Santos C.S.A.B., Vasconcellos S.A., Silva M.L.C.R., Brasil A.W.L., Pimenta C.L.R.M. & Azevedo S.S. 2012. Prevalência de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 32(3):199-203.
- Hosmer D.W. & Lemeshow S. 2000. Applied logistic regression. John Wiley & Sons, New York. 375p.
- Langoni H., Del Fava C., Cabral K.G., Silva A.V. & Chagas S.A.P. 1999. Aglutininas antileptospíricas em búfalos do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. *Ciênc. Rural.* 29(2):305-307.
- Leite R.C. & Batianetto E. 2009. Doenças infecciosas em búfalos. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7665/5438>. Acessado em: 11/12/2013.
- Paulin L.M. 2006. Estudo comparativo de diferentes técnicas sorológicas para o diagnóstico de infecções por *Brucella abortus* em búfalos (*Bubalus bubalis*). Tese de Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 93p.
- Paulin L.M. & Ferreira Neto J.S. 2008. Brucelose em búfalos. *Arq. Inst. Biol.* 75(3):389-401.
- Schmidt V., Arosi A. & Santos A.R. 2002. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc. Rural* 32(4):609-612.

- Silva G.R., Moraes C.C.G., Melo K.C.N., Matos A.S., Andrade I.M., Amaral Jr J.M., Fragoso D.S., Pereira C.F.F., Soares I.C., Araújo Neves C.S.D., Santos R.B., Meneses A.M.C., Pinho A.P.V.B., Morais Z.M., Souza G.O. & Vasconcellos S.A. 2009. Distribuição de anticorpos para *Leptospira* sp em búfalos (*Bubalus bubalis*) da região nordeste do estado do Pará. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7855/5667>. Acessado em: 11/12/2013.
- Tonhati H., Aspilcueta-Borquis R.R., De Camargo G.M.F. & Hurtado-Lugo N.A. 2011. Inovação no manejo de búfalos. Anais 21º Congresso Brasileiro de Zootecnia, Maceió, AL, p.19. (Resumo)
- Viana R.B., Del Fava C., Moura A.C.B., Cardoso E.C., Araújo C.V., Monteiro B.M., Pituco E.M. & Vasconcellos S.A. 2009. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na Amazônia. Arq. Inst. Biol. 76(3):453-457.
- Zar J.H. 1999. Biostatistical analysis. 4ªed. Prentice-Hall, New Jersey. 663p.

### Legenda da Figura

**Fig. 1. Mapa do estado da Paraíba demonstrando os municípios e as propriedades selecionadas.**

#### Os Quadros

**Quadro 1. Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Brucella abortus* em búfalos do Estado da Paraíba, de acordo com os municípios e propriedades rurais, no período de novembro de 2012 a julho de 2013**

Município/Propriedade	Nº total de animais	<i>Leptospira</i> spp.		<i>Brucella abortus</i>	
		Nº	%	Nº	%
Santa Helena/ Propriedade 1	15	4	26,6	0	0
Cacimbas/ Propriedade 2	2	0	0,0	0	0
Rio Tinto / Propriedade 3	19	8	42,1	0	0
Sapé/ Propriedade 4	12	1	8,3	0	0
Itatuba/ Propriedade 5	20	8	40	1	5
Guarabira/ Propriedade 6	5	3	60	0	0
Campina Grande/ Propriedade 7	23	8	34,7	1	4,3
Solânea/ Propriedade 8	3	0	0	0	0
Santana dos Garrotes/ Propriedade 9	4	2	50	0	0
Juripiranga/ Propriedade 10	1	0	0	0	0
Alagoa Nova/ Propriedade 11	5	0	0	0	0
Alagoa Nova/ Propriedade 12	10	3	30	0	0
Rio Tinto/ Propriedade 13	13	1	7,6	0	0
Areia/ Propriedade 14	4	0	0	0	0
Total	136	38	27,9	2	1,5

**Quadro 2. Sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentes em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho de 2013**

Sorovar	Proporção de reagentes	Frequência (%)
Bratislava	15/136	11
Pomona	12/136	8,82
Canicola	8/136	5,88
Patoc	1/136	0,74
Wolffi	1/136	0,74
Cynopteri	1/136	0,74

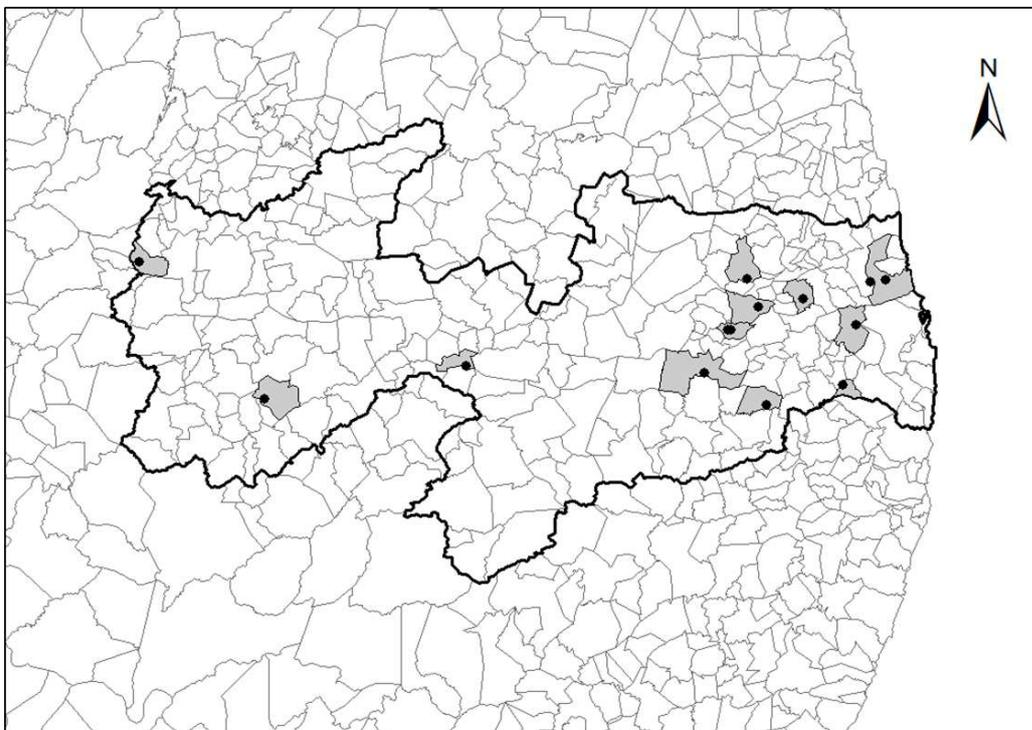


Figura 1

**CAPITULO II:**

**Toxoplasmose e neosporose em búfalos da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco**

Artigo submetida à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia  
(Qualis A2)

## **Toxoplasmose e neosporose em búfalos do Estado da Paraíba: ocorrência de anticorpos e fatores de risco**

[*Toxoplasmosis and neosporosis in buffaloes from the Paraíba State: occurrence of antibodies and risk factors*]

A.W.L. Brasil<sup>1</sup>, R.N. Parentoni<sup>1</sup>, T.F. Feitosa<sup>1</sup>, C.S. Bezerra<sup>1</sup>, V.L.R Vilela<sup>1</sup>, H.F.J. Pena<sup>2</sup>, S.S. Azevedo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Campina Grande - Patos, PB

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo - São Paulo, SP

### **RESUMO**

O objetivo do trabalho foi determinar a frequência de anticorpos e os fatores de risco para toxoplasmose e neosporose em búfalos do Estado da Paraíba. Foram utilizados 136 búfalos oriundos de 14 propriedades. Para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* foi empregada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Das 136 amostras analisadas 17 (12,5%) foram positivas para anticorpos anti-*T. gondii*, com títulos variando de 64 a 1024, e 26 (19,1%) para anticorpos anti-*N. caninum*, com títulos de 200 a 1600. Das 14 propriedades avaliadas em 10 (71,4%) houve animais soropositivos tanto para *T. gondii* como para *N. caninum*. Criação semi-intensiva (*odds ratio* = 2,99; IC 95% = 0,99 - 8,98) e presença de suínos (*odds ratio* = 4,33; IC 95% = 1,34 - 13,98) foram identificados como fatores de risco para *T. gondii* e *N. caninum*, respectivamente. Sugere-se que *T. gondii* e *N. caninum* estão disseminados em búfalos do Estado da Paraíba, bem como a necessidade de mais estudos acerca da importância desses agentes nessa espécie e em suínos, e da influência do tipo de criação na ocorrência de animais soropositivos.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, búfalo, soroepidemiologia, Nordeste do Brasil

## ABSTRACT

*The aim of this survey was to determine the frequency of antibodies and the risk factors for toxoplasmosis and neosporosis in buffaloes from Paraíba State. One hundred thirty-six buffaloes from 14 herds were used. For the detection of anti-Toxoplasma gondii and anti-Neospora caninum antibodies the indirect fluorescent antibody test (IFAT) was used. Of the 136 samples analyzed 17 (12.5%) were positive for anti-T. gondii antibodies with titers ranging from 64 to 1024, and 26 (19.1%) for anti-N. caninum with titers from 200 to 1600. Of the 14 herds evaluated in 10 (71.4%) there were seropositive animals for both T. gondii and N. caninum. Semi-intensive farming (odds ratio = 2.99, 95% CI = 0.99 - 8.98) and presence of pigs (odds ratio = 4.33, 95% CI = 1.34 - 13.98) were identified as risk factors for T. gondii and N. caninum, respectively. It is suggested that T. gondii and N. caninum are disseminated in buffaloes from Paraíba State, as well as the need for additional surveys on the importance of these agents in this species and pigs, and the influence of the farming type on the occurrence of seropositive animals.*

*Key words: Toxoplasma gondii, Neospora caninum, buffalo, seroepidemiology, Northeastern Brazil*

## INTRODUÇÃO

Reconhecido pela sua rusticidade, tolerância e resistência a doenças infecciosas e parasitárias, os búfalos são mais adaptados que os bovinos a condições ambientais adversas. Por serem animais versáteis, tornaram-se excelente alternativa para a pecuária nacional, visto que possuem tripla aptidão (produção de leite, produção de carne e tração), além de serem facilmente adaptados a ambientes hostis, como terras inundáveis, áreas costeiras, montanhas e planícies (Tonhati *et al.*, 2011).

Atualmente o Brasil possui posição de destaque na criação de búfalos e conta com um efetivo de mais de um milhão de cabeças, das quais o Nordeste possui por volta de 122 mil animais. No Estado da Paraíba, o efetivo bubalino conta com um total de aproximadamente 933 animais (Brasil, 2012).

O aumento da produtividade e da tecnificação na bubalinocultura favorecem a introdução de doenças infecciosas e parasitárias nos rebanhos em decorrência de alterações de manejo, aumento da densidade animal e confinamento (Leite e Bastianetto, 2009). Ainda não foi demonstrada a importância de *Toxoplasma gondii* e

*Neospora caninum* como causadores de abortamentos em búfalas, porém, não se pode descartar esta possibilidade, sendo necessárias investigações sobre a implicação desses agentes em perdas reprodutivas nessa espécie (Gondim *et al.*, 2007).

*T. gondii* e *N. caninum* são dois protozoários morfologicamente relacionados que apresentam distribuição geográfica cosmopolita. Ambas as espécies podem infectar ampla quantidade de espécies de animais, incluindo os bubalinos; possuem ciclos evolutivos cujos hospedeiros definitivos são espécies de carnívoros e ambos os parasitas causam abortamentos e doenças congênitas em ruminantes (Dubey *et al.*, 1988; Dubey, 2003).

*T. gondii* é um parasita intracelular obrigatório, e seu ciclo de vida é heteroxeno facultativo, sendo os felídeos os hospedeiros definitivos, eliminando oocistos nas fezes. O parasita possui três estágios infectantes: os taquizoítos (forma de infecção rápida), os bradizoítos presentes em cistos teciduais e os esporozoítos presentes nos oocistos (Dubey e Desmonts, 1987). Os búfalos podem adquirir *T. gondii* através da ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos eliminados pelas fezes de felinos. Os bovinos constam entre os hospedeiros mais resistentes à infecção, mas quando presentes, os sinais clínicos mais comuns são febre, inapetência, diarreia, dispnéia, descargas nasais e tosse, abortamentos e nascimento de fetos mal formados. Assim como os bovinos, os bubalinos também apresentam considerável resistência à infecção por *T. gondii* (Dubey, 2010).

A neosporose é uma doença abortiva, causada pelo *N. caninum*, que possui estrutura similar ao *T. gondii*, no entanto, são antigenicamente distintos (Dubey, 2003). O agente apresenta, em seu ciclo de vida, um hospedeiro intermediário, dentre os quais os bovinos, e um hospedeiro definitivo, representados pelos canídeos. O cão (*Canis lupus familiaris*) foi apontado como o hospedeiro definitivo de *N. caninum*, eliminando as formas de resistência no ambiente, os oocistos (McAllister *et al.*, 1998). Atualmente sabe-se que outros membros da família Canida e também são hospedeiros definitivos, como os coites (*Canis latrans*), dingos australianos (*Canis lupus dingo*) e lobos cinzentos (*Canis lupus lupus*) (Dubey *et al.*, 2011).

Estudos recentes acerca da ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em búfalos no Brasil revelam valores variando de 1,1% a 41,6% (Silva *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2013). Para *N. caninum*, altas frequências de anticorpos em búfalos foram encontradas em estudos nas regiões Norte (40,9%) (Silva *et al.*, 2010), Sudeste (64%) (Fujii *et al.*, 2001), e Nordeste (35,9%) (Gondim *et al.*, 2007).

Devido à inexistência de estudos sobre toxoplasmose e neosporose bubalina no Estado da Paraíba, o presente trabalho teve como objetivos determinar a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* em búfalos do Estado da Paraíba, bem como identificar fatores de risco associados às infecções.

## MATERIAS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 14 propriedades com criação de búfalos no Estado da Paraíba, nos municípios de Alagoa Nova, Areia, Campina Grande, Guarabira, Juripiranga, Santa Helena, Sapé, Rio Tinto, Santana dos Garrotes, Itatuba, Solânea e Cacimbas (Fig. 1). Segundo dados Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e Pesca da Paraíba (SEDAP), o Estado conta com 17 propriedades e um efetivo de 872 animais.

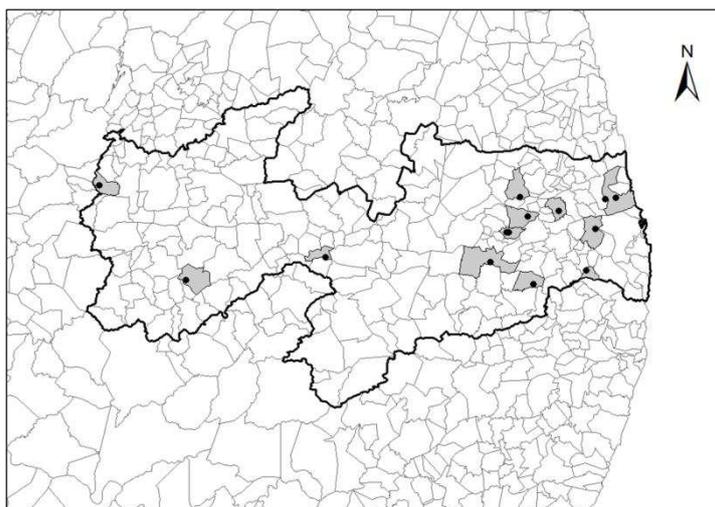


Figura 1 – Mapa do estado da Paraíba demonstrando os municípios e as propriedades selecionadas.

A população estudada foi constituída por fêmeas bubalinas com aptidão para corte e leite, mestiças e da raça Murrah, com idade igual ou superior a 24 meses. Para o cálculo do número de animais a serem amostrados foi empregada a fórmula para amostragem aleatória simples:

$$n = \frac{Z^2 P(1 - P)}{d^2}$$

Onde:

n= número de propriedades amostradas

Z= valor da distribuição normal para o nível de confiança de 95%

P= prevalência esperada de 50% (para maximização da amostra)

D= erro de 10%

De acordo com o cálculo amostral, seriam necessários 96 animais. No total, foram selecionadas 136 fêmeas bubalinas com idade  $\geq$  24 meses procedentes de 14 propriedades. As amostras de sangue foram colhidas no período de novembro de 2012 a julho de 2013, por meio de venopunção da jugular, após antissepsia e com auxílio de agulha descartável 40 x 12 mm, sendo acondicionadas em tubos de ensaio estéreis que permaneceram inclinados e em repouso para facilitar a retração do coágulo. As amostras foram centrifugadas durante 15 minutos e o soro obtido foi transferido para microtubos e armazenados à -20° C.

Durante a coleta das amostras foi aplicado questionário epidemiológico para obtenção de dados a serem utilizados na análise de fatores de risco. As variáveis e respectivas categorias utilizadas foram: tipo de criação (intensiva, semi-intensiva, extensiva), tipo de exploração (corte, leite, mista), tipo de ordenha (manual, mecânica ao pé, mecânica com sala de ordenha), número de ordenhas por dia (não ordenha, 1 vez ao dia, 2 vezes ao dia), raça predominante, outras espécies na propriedade (bovinos, equídeos, caprinos/ovinos, suínos, aves, cão, gato), espécies silvestres em vida livre na propriedade, ocorrência de abortamentos nos últimos 12 meses, presença de roedores, controle de roedores, alimentação com pastagem nativa, fonte de água (bebedouros, aguadas, rios, lagos, riachos, mananciais), realizar diagnóstico para brucelose, vacina contra brucelose, aquisição de animais, aluguel de pastos, presença de áreas alagadiças, presença de piquete de parição, separar animais jovens de adultos, resfriamento do leite, e assistência veterinária.

Para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* foi empregada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Para *T. gondii*, a diluição 1:64 foi considerada ponto de corte (Silva *et al.*, 2010) e a técnica foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Camargo (1974), utilizando-se como antígenos taquizoítos da amostra RH. Para *N. caninum*, o ponto de corte foi a diluição de 1:200 (Gondim *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2010) e a técnica foi conduzida conforme Pará *et al.* (1995), utilizando-se como

antígeno a amostra NC-1 de *N. caninum* cultivada em monócitos de bovinos. Em ambos os testes foram utilizados soros controles positivos e negativos.

A análise de fatores de risco foi efetuada em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (condição sorológica do animal). As que apresentaram um valor de  $p \leq 0,2$  pelo teste de qui-quadrado foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se a regressão logística múltipla (Hosmer e Lemeshow, 2000). O ajuste do modelo final foi verificado com o teste de Hosmer e Lemeshow, no qual um  $p > 0,05$  indica que o modelo está ajustado. A colinearidade entre as variáveis preditoras foi verificada por meio de análise de correlação e, para aquelas que apresentaram forte colinearidade (coeficiente de correlação  $> 0,9$ ), uma das duas foi excluída da análise múltipla de acordo com a plausibilidade biológica (Dohoo *et al.*, 1997). 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 136 animais analisados 17 foram positivos para *T. gondii*, obtendo-se uma frequência de 12,5%. Os títulos e respectivas frequências foram 64 (29,4%), 128 (29,4%), 256 (17,6%), 512 (11,8%) e 1024 (11,8%). Para *N. caninum*, 26 dos 136 (19,1%) animais foram positivos com títulos 200 (19,2%), 400 (34,6%), 800 (30,7%) e 1600 (15,3%). Das 14 propriedades avaliadas em 10 (71,4%) houve animais soropositivos tanto para *T. gondii* como para *N. caninum*.

Nas Tabs. 1 e 2 estão apresentadas as análises univariáveis dos dados com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,2$ ) à soropositividade para *T. gondii* e *N. caninum*. No modelo final de regressão logística (Tab. 3), o fator de risco para toxoplasmose foi a criação semi-intensiva (*odds ratio* = 2,99; IC 95% = 0,99 - 8,98), e para neosporose a presença de suínos foi identificada como fator de risco (*odds ratio* = 4,33; IC 95% = 1,34 - 13,98). Os modelos finais apresentaram bom ajuste ( $p > 0,05$ ; teste de Hosmer e Lemeshow).

Tabela1. Resultados da análise univariável com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,2$ ) à soropositividade para *T. gondii* em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho 2013

Variável	Categoria	Nº total de animais	Nº de animais positivos (%)	P
Tipo de criação	Semi-intensiva	32	7 (21,9)	0,122
	Extensiva	104	10 (9,6)	
Tipo de exploração	Corte	97	11 (11,3)	0,143
	Leite	20	5 (25)	
Presença de suínos	Não	121	13 (10,7)	0,179
	Sim	15	4 (26,7)	
Controle de roedores	Não	48	9 (18,8)	0,175
	Sim	88	8 (9,1)	
Acesso a aguadas	Não	58	4 (6,9)	0,149
	Sim	78	13 (16,7)	
Abortamento nos últimos 12 meses	Não	109	11 (10,1)	0,106
	Sim	27	6 (22,2)	
Separar animais jovens de adultos	Não	87	7 (8)	0,068
	Sim	49	10 (20,4)	

Tabela 2. Resultados da análise univariável com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,2$ ) à soropositividade para *N. caninum* em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho 2013

Variável	Categoria	Nº total de animais	Nº de animais positivos (%)	P
Tipo de criação	Semi-intensiva	32	11 (34,4)	0,024
	Extensiva	104	15 (14,4)	
Tipo de exploração	Corte	97	14 (14,4)	0,029
	Leite	20	8 (40)	
Presença de Suínos	Não	121	18 (14,4)	0,001
	Sim	15	8 (53,3)	
Presença de	Não	85	21 (24,7)	0,056
	Sim	51	5 (9,8)	
Aquisição de animais	Não	84	11 (13,1)	0,041
	Sim	52	15 (28,8)	
Resfriamento do leite	Não	126	20 (15,9)	0,003
	Sim	10	6 (60)	

Tabela 3. Fatores de risco para infecção por *T. gondii* e *N. caninum* em bubalinos do Estado da Paraíba, no período de novembro de 2012 a julho 2013

Fator de risco	Odds ratio	IC 95%	p
<b><i>Toxoplasma gondii</i></b>			
Criação semi-intensiva	2,99	[0,99 - 8,98]	0,05
<b><i>Neospora caninum</i></b>			
Presença de suínos	4,33	[1,34 - 13,98]	0,014

## DISCUSSÃO

Estudos sobre frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em búfalos no Brasil revelaram frequências que variam de 1,1% a 49,9% (Souza *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2010). Sabe-se que os búfalos são consideravelmente resistentes à infecção por *T. gondii* (Dubey, 1988), no entanto, trabalhos conduzidos no Brasil, como os de Souza *et al.* (2001) e de Silva *et al.* (2013), nos quais as frequências de anticorpos foram de 49,9% e 36%, respectivamente, chamam atenção para a necessidade da realização de mais estudos sobre essa parasitose em búfalos. A presença de anticorpos é um indicativo da circulação desses protozoários nas propriedades estudadas, representando um risco para a saúde pública, assim como um possível envolvimento em distúrbios reprodutivos nessa espécie (Silva *et al.*, 2010).

Trabalhos sobre fatores de risco para toxoplasmose em búfalos são escassos no Brasil. No geral a infecção está relacionada à idade dos animais, de maneira que quanto mais velhos os animais maior será a frequência de soropositividade. Isso se deve ao fato de maior exposição aos oocistos esporulados em função da idade (Dubey, 1986). Silva *et al.* (2013) identificaram a raça mediterrânea como a mais predisposta à apresentar anticorpos anti-*T. gondii*, e que em animais prenhes a frequência de anticorpos é maior de que em animais não prenhes. No presente trabalho, a criação semi-intensiva foi identificada como fator de risco em relação à criação extensiva. Albuquerque *et al.* (2011), em trabalho para identificar os fatores de risco para toxoplasmose bovina, afirmaram que animais criados de maneira semi-intensiva possuem maior risco de adquirirem toxoplasmose dado que as chances de contato com oocistos ambientais são maiores, provavelmente pelo fato de que tanto o confinamento como a criação extensiva favorecem tal contato. De fato, na criação semi-intensiva, os animais permanecem parte do dia soltos na pastagem e parte confinados.

Trabalhos sorológicos para *N. caninum* em búfalos no Brasil têm apontado frequências variando de 40,9% (Silva *et al.*, 2010) a 49,9% (Souza *et al.*, 2001). Nos bovinos a neosporose é tida como a maior causa de abortamentos no mundo, contudo ainda não existem relatos sobre seu impacto na esfera reprodutiva de búfalos (Dubey *et al.*, 2007), no entanto, há relatos de isolamento de *N. caninum* a partir de cérebro e fetos de búfalos no Brasil (Rodrigues *et al.*, 2004; Chryssafidis *et al.*, 2011). Dessa maneira, devido à

importância econômica da bubalinocultura no Brasil, a neosporose deve ser investigada como possível causa de abortamentos nesta espécie (Moore, 2005).

Assim como para a toxoplasmose, são escassos os estudos de fatores de risco para neosporose bubalina. No presente trabalho a presença de suínos foi identificada como fator de risco para a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em búfalos. Embora a presença de suínos não tenha importância direta na transmissão do agente para búfalos, Azevedo *et al.* (2010) relataram a ocorrência de suínos da Paraíba positivos para *N. caninum* pela RIFI e por técnicas confirmatórias de immunoblotting usando antígeno total e purificado (p38 - NcSRS2) de taquizoítos de *N. caninum*, o que sugere uma possível complementaridade do ciclo biológico nas propriedades quando da presença de hospedeiros definitivos. Dessa maneira, são necessários estudos de isolamento do agente em suínos e búfalos para elucidar a real importância da neosporose nessas espécies.

Embora não apontadas como fatores de risco na análise múltipla, as variáveis criação semi-intensiva e aquisição de animais merecem destaque, uma vez que foram selecionadas na análise univariável ( $p < 0,05$ ) para *N. caninum*. É relatada a possibilidade de cães contaminarem silos com oocistos de *N. caninum* eliminados pelas fezes (McCallister *et al.*, 1998). Frequentemente as silagens são utilizadas como suplementação alimentar de animais de sistema semi-intensivo, justificando a maior frequência (34,4%) de animais soropositivos em relação à criação extensiva (14,4%). Assim como observado para *T. gondii*, na criação semi-intensiva as chances de contato com oocistos ambientais são maiores, provavelmente pelo fato de que tanto o confinamento como a criação extensiva favorecem tal contato. A aquisição de animais é um fator de risco clássico para a ocorrência de doenças infecciosas, principalmente se a introdução dos animais não for precedida de diagnóstico. Chiebao *et al.* (2013) referiram que a introdução de bovinos no rebanho é um fator de risco para neosporose.

## CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho indicam uma elevada frequência de propriedades positivas e de animais soropositivos para *T. gondii* e *N. caninum*, sugerindo que os agentes estão disseminados em búfalos do Estado da Paraíba. Com base na análise de fatores de risco, sugere-se a necessidade de mais estudos acerca da

importância desses agentes nessa espécie e em suínos, bem como da influência do tipo de criação na ocorrência de animais soropositivos.

### REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, G.R.; MUNHOZ, A.D.; TEIXEIRA, M. *et al.* Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in dairy cattle, state of Rio de Janeiro. *Pesq. Vet.Bras.*,v.31, n.4, p.287-290, 2011.
- AZEVEDO, S.S.; PENHA, H.F.J.; ALVES, C.J. *et al.* Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.19, n.2, p.80-84, 2010.
- BRASIL, INSTITUTO BRASILEIRO E GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE).Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Pesquisa da Pecuária Municipal, 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>>. Acessado em: 11 dez.2013.
- CAMARGO, M.E. Introdução das técnicas de imunofluorescência. *Rev. Bras. Patol. Clín.*, v.10, n.3, p.87-107, 1974.
- CHIEBAO, D.P.; VALADAS, S.Y.O.B.; MINERVINO, A.H.H. *et al.* Variables associated with infections of cattle by *Brucella abortus*, *Leptospira spp.* and *Neospora spp.* in Amazon region in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2013. Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.12201/full>>. Acessado: 2fev. 2014.
- CHRYSSAFIDIS, A.L.; SOARES, R.M.; RODRIGUES, A.A.R. *et al.* Evidence of congenital transmission of *Neospora caninum* in naturally infected water buffalo (*Bubalus bubalis*) fetus from Brazil. *Parasitol. Res.*, v.108, n.3, p.741–743, 2011.
- DOHOO I.R.; DUCROT C.; FOURICHON C. *et al.* An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Prev. Vet. Med.*, v.29, n.3, p.221-239, 1997.
- DUBEY, J.P. A review of toxoplasmosis in cattle. *Vet. Parasitol.*, v.22, n.3-4, p.177–202, 1986.
- DUBEY, J.P., DESMONTS, G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Vet. J.*, v.19, n.4, p.337–339, 1987.

- DUBEY, J.P.; HATELL, A.L.; LINDSAY, D.S.; TOPPER, M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.193, n.10, p.1259–1263, 1988.
- DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; RAJENDRAN, C. *et al.* Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, v.181, n.2-4, p.382–387, 2011.
- DUBEY, J.P. 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.*, v.49, n.6, p.910-913, 1988.
- DUBEY, J.P.; Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, v.41, n.1, p.1-16, 2003.
- DUBEY, J.P., SCHARES, G., ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.20, n.2, p 323–367, 2007.
- DUBEY J.P. (Ed). *Toxoplasmosis of animals and humans*. Boca Raton: CRC Press, 2010. 336p.
- FUJII, T.U.; KASAI, N.; NISHI, S.M. *et al.* Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.99, n.4, p.331-334, 2001.
- GONDIM, L.F.P.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v.8, n.2, p. 92-96, 2007.
- HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. New York: John Wiley & Sons, 2000. 375p.
- LEITE R.C.; BATIANETTO E. Doenças infecciosas em búfalos. *Ciência Animal Brasileira*, 2009. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7665/5438>>. Acessado: 2 fev. 2014.
- McALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, v.28, n.9, p.1473-1478, 1998.
- MOORE, D.P. Neosporosis in South America. *Vet. Parasitol.*, v.127, n.2, p. 87–97, 2005.

- PARÉ, J.; HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.7, n.3, p.352-359, 1995.
- RODRIGUES, A.A.R.; GENNARI, S.M.; AGUIAR, D.M. *et al.* Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.124, n.3-4, p.139–150, 2004.
- SILVA, S.P.; MOTA, R.A.; FARIA, E.B. *et al.* Anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.5, p.443-446, 2010.
- SILVA, S.P.; MOTA R.A.; FARIA E.B. *et al.* Comparação das técnicas de ELISA indireto e imunofluorescência indireta na detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalas (*Bubalus bubalis*). *Pesq. Vet. Bras.*, v.33, n.4, p.431-434, 2013.
- SILVA, J.B.; FONSECA, A.H.; ANDRADE, S.J.T. *et al.* Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.*, v.33, n.5, p.581-585, 2013.
- SOUZA, L.M.; NASCIMENTO, A.A.; FURUTA, L.I. *et al.* Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no estado de São Paulo, Brasil. *Semina Cienc. Agrar.*, v.22, p.39-48, 2001.
- TONHATI, H.;A SPILCUETA-BORQUIS, R.R.; DE CAMARGO, G.M.F.; HURTADO-LUGO, N.A. Inovação no manejo de búfalos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 21.,2011, Maceió. *Anais...* Maceió: [s.n.] 2011. p.1-19. (Resumo).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho é o primeiro a relatar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp., anti-*Brucella abortus*, anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em búfalos do Estado da Paraíba. Os resultados encontrados sugerem que *Leptospira* spp., *T. gondii* e *N. caninum* estão disseminados em búfalos do Estado da Paraíba. Uma vez que a brucelose é alvo de controle oficial em bovinos no Brasil, a presença de búfalos positivos indica a possibilidade de impacto negativo nas ações de controle da doença em bovinos, e dessa forma recomenda-se que maior atenção seja dada a esses animais do ponto de vista do controle da brucelose.

Com relação à leptospirose, sugere-se que a criação consorciada com equinos e suínos pode ser um fator importante na ocorrência de animais positivos. Baseado nas análises de fatores de risco, sugere-se a necessidade de mais estudos acerca da importância de *T. gondii* e *N. caninum* em búfalos e em suínos, bem como da influência do tipo de criação na ocorrência de animais soropositivos.

## ANEXO I

## Questionário epidemiológico a ser aplicado nas propriedades amostradas

<b>01-Identificação</b>	
Código da propriedade (3 dígitos):  __   __   __	Data da visita e colheita ____/____/____
Proprietário: _____	Coordenadas geográficas:
Propriedade: _____	- Lat _____° _____', _____''
Município _____	- Lon _____° _____', _____''

<b>02- Tipo de criação:</b> <input type="checkbox"/> Intensiva <input type="checkbox"/> Semi-intensiva <input type="checkbox"/> Extensiva
<b>03-Tipo de exploração:</b> <input type="checkbox"/> Corte <input type="checkbox"/> Leite <input type="checkbox"/> Mista
<b>04-Tipo de Ordenha:</b> <input type="checkbox"/> Manual <input type="checkbox"/> Mecânica ao pé <input type="checkbox"/> Mecânica com sala de ordenha
<b>05- Quantidade de ordenha por dia:</b> <input type="checkbox"/> Não ordenha <input type="checkbox"/> 1 vez ao dia <input type="checkbox"/> 2 vezes ao dia
<b>06-Produção de leite:</b> (a) N° de cabras em lactação _____ (b) Produção diária de leite _____ litros
<b>07- Raça predominante:</b> <input type="checkbox"/> mestiça <input type="checkbox"/> murrh <input type="checkbox"/> Jaffarabadi <input type="checkbox"/> Carabaó <input type="checkbox"/> Mediterrâneo <input type="checkbox"/> Outras raças

08 – Búfalos existentes							
Machos				Fêmeas			
0-6 meses	6-12 meses	12-24 meses	>24 meses	0-6 meses	6-12 meses	12-24 meses	>24 meses

<b>09- Outras espécies na propriedade:</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<input type="checkbox"/> Bovinos <input type="checkbox"/> Equídeos <input type="checkbox"/> Caprinos/ovinos <input type="checkbox"/> suínos <input type="checkbox"/> aves <input type="checkbox"/> cão <input type="checkbox"/> gato
<b>10- Espécies silvestres em vida livre na propriedade (raposa, teju, etc.):</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>11- Plantas tóxicas na propriedade?</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>12- Faz controle de roedores?</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>13- Desratização:</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>14- Anti-ratização:</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>15- Alimentação:</b> pastagem nativa? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>16- Acesso a água:</b> bebedouros? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim/ aguadas? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim/ rios, lagos, riachos, mananciais? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim

<b>17-Alguma búfala abortou nos últimos 12 meses</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>18- O que fez com o feto abortado</b> <input type="checkbox"/> nada <input type="checkbox"/> alimenta porcos ou cães <input type="checkbox"/> enterra/queima
<b>19-Faz diagnóstico para brucelose:</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>20- Com que frequência:</b> <input type="checkbox"/> 1 vez por ano <input type="checkbox"/> 2 vezes por anos <input type="checkbox"/> quando compra animais <input type="checkbox"/> quando a caso de aborto na propriedade <input type="checkbox"/> quando é exigido para transporte
<b>21-Vacina contra brucelose</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>22- Exames de OPG:</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>23- Local de abate dos animais adultos no fim da vida reprodutiva:</b> <input type="checkbox"/> Em estabelecimento com inspeção <input type="checkbox"/> Em estabelecimento sem inspeção <input type="checkbox"/> Na fazenda

<b>24-Compra animais?</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>Onde/de quem:</b> <input type="checkbox"/> em exposição <input type="checkbox"/> em leilão/feira <input type="checkbox"/> de comerciantes <input type="checkbox"/> de outras propriedades
<b>25- Vende animais?</b> <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim
<b>A quem/onde:</b> <input type="checkbox"/> em exposição <input type="checkbox"/> em leilão/feira <input type="checkbox"/> a comerciantes <input type="checkbox"/> a outras propriedades



## ANEXO II

## NORMAS DO PERIÓDICO PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@pvb.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponível no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras

serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias)originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será

identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, começando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

## ANEXO III

### NORMAS DO PERIÓDICO ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

#### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

##### **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** *(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)*

#### **Política Editorial**

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

#### **Reprodução de artigos publicados**

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <[www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br)>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços [www.scielo.br/abmvz](http://www.scielo.br/abmvz) ou [www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br).

#### **Orientação para tramitação de artigos**

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação on-line do ABMVZ no endereço [www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br).
- Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.
- Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.
- A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.
- Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.
- O ABMVZ comunicará, via eletrônica, a cada autor, a sua participação no artigo. Caso pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

### **Tipos de artigos aceitos para publicação:**

#### **Artigo científico**

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 30.

#### **Relato de caso**

Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 10, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

#### **Comunicação**

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico.

O texto, com título em português e em inglês, Autores e Filiação deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

O número de páginas não deve exceder a 8, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

### **Preparação dos textos para publicação**

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

### **Formatação do texto**

O texto **NÃO** deve conter subitens em qualquer das seções do artigo e deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

□ Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

### Seções de um artigo

□ **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.

□ **Autores e Filiação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

### Nota:

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação.

2. o texto do artigo em pdf **NÃO** deve conter o nome dos autores e filiação.

□ **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

□ **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco.

□ **Introdução.** Explanação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.

□ **Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança, quando for o caso.

□ **Resultados.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

□ **Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1,

2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é 8). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

□ *Figura*. Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é referida no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se referir a mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviadas no formato jpg com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão na tela de registro do artigo. As figuras devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

**Nota:**

□ Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

□ **Discussão**. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes e sem subitens).

□ **Conclusões**. As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

□ **Agradecimentos**. Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

□ **Referências**. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ conforme exemplos:

**Como referenciar:**

**1. Citações no texto**

□ A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

□ autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)

□ dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)

□ mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979)

□ mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

□ *Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

□ *Comunicação pessoal.* Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

**2. Periódicos** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

**3. Publicação avulsa** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

**4. Documentos eletrônicos** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

**Nota:**

- Artigos que não estejam rigorosamente dentro das normas acima não serão aceitos para avaliação.
- O Sistema reconhece, automaticamente, como “Desistência do Autor” artigos em diligência e/ou “Aguardando liberação do autor”, que não tenha sido respondido no prazo dado pelo Sistema.

**Taxas de submissão e de publicação:**

- Taxa de submissão.** A taxa de submissão de R\$50,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o

boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.

**Taxa de publicação.** A taxa de publicação de R\$95,00, por página impressa em preto e R\$280,00 por página impressa em cores será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal.

**Recursos e diligências:**

No caso de o autor encaminhar resposta a diligências solicitadas pelo ABMVZ, ou documento de recurso, o mesmo deverá constar como a(s) primeira(s) página(s) do texto do artigo somente na versão em Word.

No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso, o mesmo deve ser feito pelo e-mail [abmvz.artigo@abmvz.org.br](mailto:abmvz.artigo@abmvz.org.br)