

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR

CAROLINA ANGÉLICA LIBÓRIO MACHADO

**PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR *Mycoplasma ovis*
EM CAPRINOS DO ESTADO DA PARAÍBA**

CURITIBA

2016

CAROLINA ANGÉLICA LIBÓRIO MACHADO

**PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR *Mycoplasma ovis*
EM CAPRINOS DO ESTADO DA PARAÍBA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira

CURITIBA

2016

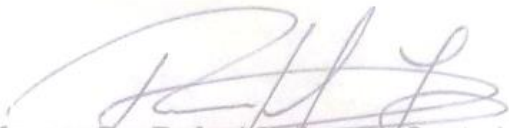
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

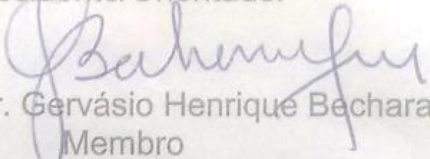


PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR MYCOPLASMA OVIS EM CAPRINOS DO ESTADO DA PARAÍBA”** apresentada pela Mestranda **CAROLINA ANGÉLICA LIBÓRIO MACHADO** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 21 de outubro de 2016


Professor Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira
Presidente/Orientador


Professor Dr. Gervásio Henrique Bechara
Membro


Professor Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Membro

Dedico este trabalho a meu pai, minha saudade
eterna...

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente ao CNPq, por ter apoiado financeiramente o projeto que hoje apresento como forma de dissertação, e a CAPES pelo auxílio financeiro pessoal durante quase dois anos de mestrado. À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de fazer parte desta instituição e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Agradeço especialmente ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira e sua esposa Dra. Thallitha Samih Wischral Jayme Vieira, não somente por me guiarem nos passos diários dessa etapa, como por terem me acolhido desde a primeira vez que coloquei os pés nessa cidade tão ao Sul. Muito obrigada pela paciência, pelos ensinamentos. Tenham certeza que essa bagagem estará comigo não importa aonde eu vá e que continuarei aqui, a disposição sempre que precisarem de mim.

Agradeço aos outros professores do programa em nome do Prof. Dr. Alexander Welcker Biondo e Prof. Dr. Ivan Roque Barros Filho por também compartilharem seus conhecimentos comigo e por me permitirem compor este grupo de pesquisa.

À Universidade Estadual de Londrina, Prof. Dr. Odillon Vidotto e Nelson, por terem me acolhido no laboratório e me auxiliado durante o processo.

As minhas colegas e amigas de laboratório: Jessica, Anna Cláudia, Nayara e Kelly. Vocês foram fundamentais na minha vida, me apoiando e acompanhando diariamente, dentro e fora da Universidade. Amigas que levarei comigo para toda a vida, e que sentirei falta todos os dias. Jéssica, meu pedacinho de Nordeste no Sul, começamos essa caminhada juntas e hoje estou indo embora realizada por ter conhecido alguém como você, você é a melhor! Anna Cláudia, indescritível o prazer de te conhecer nesse último ano, que não foi fácil, mas que com você pude dar boas risadas. Nayara, nossa estagiária que virou colega e que enriquece nosso convívio com muitas histórias. Kelly amada, você é uma pessoa muito querida e especial, espero que seja muito feliz com sua linda família, vou sentir saudades.

À Deus, por me guiar até aqui e me presentear sempre com oportunidades maravilhosas, contribuindo para o meu crescimento espiritual e intelectual, a ti toda honra e glória!

Ao meu pai, Prof. Dr. Paulo Batista Machado, meu amor, meu maior orgulho e exemplo! Sempre segui os teus passos e queria muito que o senhor me visse alcançar mais esse degrau acadêmico, infelizmente a vida segue seu próprio rumo e hoje sua presença e abraço não são mais fisicamente possíveis, mas sei que estará sempre comigo, e que minha vitória é também sua. Te amo!!

À minha mãe Neuza Dione G. L. Machado, meu exemplo de força e garra na vida! Muito obrigada mãe, por tudo que a senhora fez e faz por nós! A vida nos deu rasteiras, mas vamos levantar juntas! Te amo!

Aos meus irmãos Wellington, Wilma, Camila, Felipe e Paulo Segundo, muito obrigada pela paciência e pelo carinho. Nos momentos difíceis que percebemos o quanto é importante ter um irmão, e eu tenho a sorte de ter cinco, cada um de seu jeito, porém capazes de partilhar o amor e apoiar um ao outro como nossos pais nos ensinaram. Obrigada por entenderem a minha ausência em dias difíceis e segurarem a barra por mim. Prometo me fazer mais presente.

Aos meus sobrinhos amados, meus quase filhos que amo imensamente. Meus avós, tios e primos! Família é tudo!

Ao meu companheiro José Augusto por estar ao meu lado nos últimos sete anos, por aceitar vir comigo para Curitiba e ser meu chão em muitos momentos de ansiedade, nervosismo, medo e insegurança. Você é o melhor companheiro que alguém pode ter! Te amo!

Aos meus cinco cães Bidu, Vencedor, Bruma, Chloé e Branquinha, sinto saudades de vocês todos os dias!

Encerro mais uma etapa da minha vida agradecendo imensamente a todos que de alguma forma contribuíram para meu aprendizado. Fecha-se mais um ciclo, espero ansiosamente pelo próximo!

“E todo o conhecimento é vão, a não ser que haja trabalho.
E todo trabalho é vazio, a não ser que haja amor.
E quando trabalhais com amor, vos ligais a vós
mesmos, e aos outros, e a Deus.”
(Khalil Gibran)

RESUMO

Micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) são bactérias Gram-negativas, pleomórficas e que se aderem à membrana de eritrócitos de uma grande variedade de espécies animais. Estão distribuídos mundialmente e diferentes espécies destas bactérias já foram descritas em animais domésticos, silvestres e seres humanos. Entretanto, estudos envolvendo a detecção de hemoplasmas em caprinos são escassos e ainda não haviam sido realizados no Brasil. Assim, objetivou-se determinar a prevalência e os fatores associados à infecção por *Mycoplasma* sp. em caprinos do estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Um total de 158/402 (39,3%) animais foram positivos para o gene 16S rRNA de *Mycoplasma* sp. pela PCR. O sequenciamento genético de 10% das amostras positivas demonstrou $\geq 99\%$ de identidade com várias sequências de *Mycoplasma ovis* depositadas no GenBank. Caprinos leiteiros (OR = 2.15; 95% IC: 1.40-3.32%; $p = 0.0004$) e anêmicos (OR = 2.39; 95% IC: 1.54-3.71%; $p = 0.00007$) apresentaram maior chance de estarem infectados por *M. ovis* do que caprinos de corte não anêmicos. *Amblyomma parvum* (49/52, 94.23%) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (3/52, 5.77%) foram as espécies de carrapatos encontradas nos animais. Este é o primeiro relato de detecção molecular de *M. ovis* em caprinos na América do Sul.

Palavras-chave: Hemoplasmas; Micoplasmose hemotrópica; pequenos ruminantes; PCR

ABSTRACT

Hemotropic mycoplasmas (haemoplasmas) are gram-negative pleomorphic bacterias that infect the erythrocytes membrane of a wide range of animal hosts. This pathogen is worldwide distributed and different species were described infecting domestic and wild animals and also humans. However, studies involving the diagnosis of haemoplasmas in goats are scarce and had not yet been conducted in Brazil. Thus, the present work aimed to detect the prevalence and risk factors associated with the infection of *Mycoplasma* sp. in goats from Paraíba State, Northeastern Brazil. A total of 158/402 (39.3%) animals were positive for the 16S rRNA gene from *Mycoplasma* sp. by PCR. The sequencing of 10% of positive samples demonstrated a $\geq 99\%$ of similarity with multiple *Mycoplasma ovis* sequences deposited on GenBank. Dairy (OR = 2.15; 95% IC: 1.40-3.32%; $p = 0.0004$) and anemic goats (OR = 2.39; 95% IC: 1.54-3.71%; $p = 0.00007$) showed higher chances to be infected by *M. ovis* than non-anemic beef goats. *Amblyomma parvum* (49/52, 94.23%) and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (3/52, 5.77%) were the tick species found in these animals. This is the first report of molecular detection of *M. ovis* in goats from South America.

Keywords: Hemoplasmas; Hemotropic mycoplasmosis; small ruminants; PCR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Microscopia eletrônica de *M. haemofelis*. Fonte: Messick., 2004
.....14

Figura 02: Árvore filogenética proposta por Neimark et al., 2001, a partir da análise do 16S RNA ribossomal.....15

Prevalence and factors associated with *Mycoplasma ovis* infection in goat farms from northeastern Brazil

Figure 01. Geographical locations of farms (dairy and beef) used in the study and limits of the climate in the State of Paraíba, Northeastern Brazil.
.....27

Figure 02: Electrophoresis gel from the PCR for hemoplasmas
.....30

LISTA DE TABELAS

Prevalence and factors associated with *Mycoplasma ovis* infection in goat farms from northeastern Brazil

Table 1. Prevalence of *M. ovis* in goats within each variable studied, Paraíba State, Northeastern Brazil.37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. Etiologia.....	14
3.2. Epidemiologia.....	15
2.3. Sinais Clínicos	16
2.4. Transmissão e Patogenia.....	16
2.5. Diagnóstico	17
2.6. <i>Mycoplasma ovis</i>	17
2.7. Caprinos	18
2.8 Impactos em Saúde Pública	19
REFERÊNCIAS.....	20
4. ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO –	24
Periódico Tick and Tick Borne Diseases	24
4.1. Prevalence and factors associated with <i>Mycoplasma ovis</i> infection in goat farms from northeastern Brazil	24
Summary.....	24
Introduction.....	25
Material and Methods	26
Results.....	30
Discussion.....	31
5. CONCLUSÕES	38
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética	39
APÊNDICE A: Questionários Epidemiológicos	40
REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

Micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) são bactérias Gram-negativas que parasitam a superfície de eritrócitos, podendo causar anemia hemolítica e o desenvolvimento de uma enfermidade aguda, trazendo diversos prejuízos à produção animal e à saúde pública. Estão presentes em quase todas as espécies animais, incluindo mamíferos, aves e reptéis. Existem diversos relatos de detecção em seres humanos, atestando o seu potencial zoonótico (Millán et al. 2015).

O íntimo contato entre pessoas e animais, ou o consumo de seus sub-produtos, desmatamento, agricultura e a ação direta do homem no meio ambiente, são considerados fatores responsáveis pela emergência ou re-emergência de zoonoses (Grisotti 2010). Nos Estados Unidos, um estudo que visava pesquisar hemoplasmas em seres humanos encontrou 11 pacientes positivos para hemoplasmas, principalmente da espécie *Mycoplasma ovis*. Os pacientes positivos possuíam contato direto com animais, identificados como médicos veterinários, técnicos veterinários ou cônjuges de veterinários (Maggi et al. 2013).

Mycoplasma ovis é descrito como a principal espécie de hemoplasma encontrada em caprinos e ovinos (Neimark et al. 2004). Entretanto, a pesquisa deste agente em caprinos no mundo é escassa com prevalência variando de ausente na Austrália e Tunísia (Daddow, 1979a; Mason; Corbould; Statham, 1989b; Rjeibi et al., 2015) à 94% na Malásia (Jesse et al., 2015). Não há relatos de sua presença em caprinos da América do Sul.

A caprinocultura apresenta grande importância social e econômica para o Nordeste brasileiro em virtude das poucas alternativas econômicas nesta região (Alencar et al., 2010). No Nordeste concentra-se 92% do rebanho nacional. O estado da Paraíba possui o quinto maior rebanho do país, e a maior produção de leite de cabra (18 mil litros/dia). A criação estadual de caprinos se concentra na denominada região dos Cariris Paraibanos, localizada no centro do espaço geográfico do Estado (EMBRAPA, 2014).

Considerando a escassez de estudos de hemoplasma em caprinos, o contato íntimo do homem com essa espécie animal e a capacidade zoonótica do agente causador da micoplasmose hemotrófica caprina, é fundamental a pesquisa deste agente nos caprinos brasileiros para a compreensão de sua distribuição, comportamento e fatores associados a infecção no nosso país.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência e fatores associados a infecção por hemoplasmas em caprinos do estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, utilizando métodos moleculares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

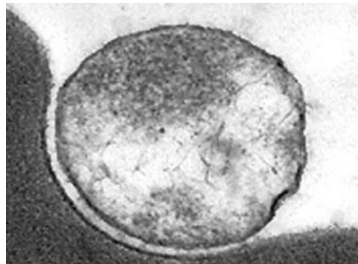
- Verificar a presença de hemoplasmas em caprinos utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR);
- Padronizar uma PCR para o diagnóstico das espécies de hemoplasmas de caprinos;
- Caracterizar geneticamente (16S rRNA) as espécies de hemoplasmas presentes na região e compará-las com os isolados depositados no banco genético (GenBank);
- Coletar e identificar as espécies de carrapatos presentes nos animais;
- Identificar os principais fatores associados à infecção.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Etiologia

Hemoplasmas são bactérias de pequeno tamanho (0,3 a 3 μm de diâmetro), envoltos por uma membrana simples, desprovidos de núcleo e parede celular, apresentando em seu citoplasma apenas alguns grânulos e estruturas filamentosas (Figura 01). Visualmente, são vistos aderidos à membrana de eritrócitos isoladamente ou em agregados em forma de correntes. Apesar de serem pleomórficos, há uma tendência em se apresentarem na forma de cocos. Se reproduzem por fissão binária e são incultiváveis em laboratório (Messick., 2004).

FIGURA 01: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE MYCOPLASMA HAEMOFELIS. OBSERVA-SE MEMBRANA SIMPLES, AUSÊNCIA DE NÚCLEO, FILAMENTOS NO CITOPLASMA E FIBRILAS QUE OS MANTÉM ADERIDOS AS CÉLULAS HOSPEDEIRAS.

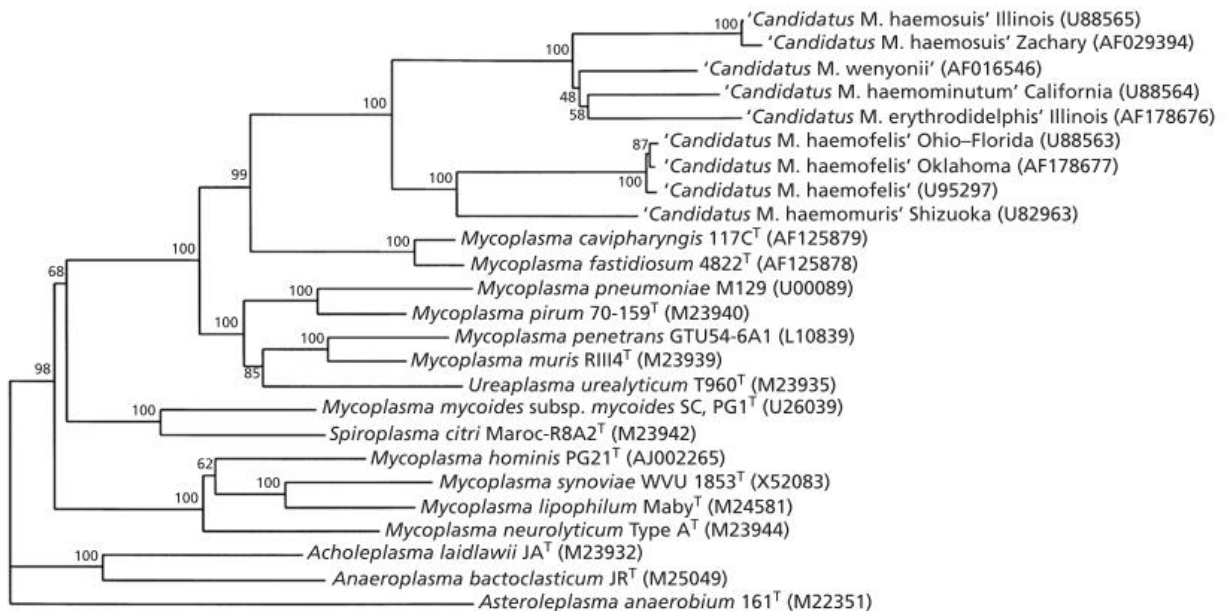


FONTE: MESSICK, 2004. 1 CM = 0.25 μM .

Anteriormente, eram denominados *Haemobartonella* e *Eperythrozoon*, família Anaplasmataceae, ordem Rickettsiales, pelo fato de parasitarem eritrócitos, serem transmitidos por vetores artrópodes e outras características morfológicas. Porém, desde 1965 existia uma suspeita de que estes microorganismos seriam mais semelhantes a membros da classe Mollicutes do que Anaplasmataceae. Esta suspeita era baseada no fato de não serem parasitas intracelulares, ausência de parede celular e flagelos, resistência a penicilina e análogos, além de serem susceptíveis as tetraciclínas (Tanaka et al., 1965).

Então, com base no sequenciamento do gene 16S ribossomal (16S rRNA), sugeriu-se que as espécies *Haemobartonella felis*, *Haemobartonella muris*, *Eperythrozoon suis* e *Eperythrozoon wenyonii* fossem renomeadas como ‘*Candidatus Mycoplasma haemofelis*’, ‘*Candidatus Mycoplasma haemomuris*’, ‘*Candidatus Mycoplasma haemosuis*’ e ‘*Candidatus Mycoplasma wenyonii*’. Que estas fossem realocadas na classe dos Mollicutes e gênero *Mycoplasma* (Figura 02), além de reavaliar a classificação filogenética para todas as espécies designadas como *Haemobartonella* e *Eperithrozoon* (Neimark et al., 2001).

Figura 02: Árvore filogenética proposta por Neimark et al. (2001), a partir da análise do gene 16S RNA ribossomal de hemoplasmas.



Oficialmente, em 2002 estas bactérias tiveram sua nomenclatura taxonômica revisada, retirando assim o termo “*Candidatus*” e sendo incluídas na classe Mollicutes (Neimark et al., 2002).

3.2. Epidemiologia

Micoplasmas são cosmopolitas, com relatos de sua presença em todo o mundo, com exceção da Antártida. Podem ser encontrados em quase todas as famílias e espécies de animais, desde mamíferos até reptéis. No Brasil, existem três cepas circulantes para felinos silvestres e domésticos: *M. haemofelis*, ‘*Ca. Mycoplasma haemominutum*’, e ‘*Ca. Mycoplasma turicensis*’. Em cães são relatados *Mycoplasma haemocanis* e ‘*Ca. Mycoplasma haematoparvum*’. Em suínos foram isolados *Mycoplasma suis* e ‘*Ca. M. haematoparvum*’ (Biondo et al., 2009). Foi encontrada uma potencial nova espécie de hemoplasma em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) com identidade de 96% com *Mycoplasma coccoides* (Vieira et al., 2009). Vários estudos envolvendo equídeos brasileiros falharam em detectar hemoplasmas (Vieira et al., 2009; Vieira et al., 2015)

Acreditava-se que hemoplasmas fossem hospedeiro-específicos e o termo hospedeiro era utilizado para designar o animal no qual aquela espécie de bactéria era constantemente isolada (Pitcher; Nicholas, 2005). Porém, é possível perceber a existência de uma mesma

espécie parasitando diferentes hospedeiros, como é o caso do ‘*Ca. M. haemominutum*’, que pode ser encontrado nos cães, gatos e suínos (Biondo et al., 2009).

Além disso, Clark (2002) alega que para estas bactérias o termo hospedeiro seja ainda mais difícil de se definir, pois deve-se considerar hospedeiro aquele onde o microorganismo é mais comumente isolado ou aquele em que ele se adaptou ao ponto de nem gerar sinais clínicos ou enfermidade? A falta de conhecimento de patogenicidade, epidemiologia, transmissão e importância clínica desta espécie torna extremamente complexa a capacidade de apontar hospedeiros, especificidade e até mesmo distribuição mundial dos micoplasmas.

3.3. Sinais Clínicos

Animais e seres humanos infectados podem ser assintomáticos ou apresentar latências por anos, a depender da patogenicidade da espécie em questão e da susceptibilidade do hospedeiro. A enfermidade clínica aguda se caracteriza basicamente por anemia hemolítica variando de grau leve a grave. Pode estar acompanhada de febre, anorexia, icterícia e hipoglicemia, podendo levar o paciente a óbito. A forma crônica não tem sua patogenia devidamente esclarecida, porém sabe-se que pode causar retardo no crescimento e no desempenho reprodutivo de alguns animais (Biondo et al., 2009).

Em alguns casos quando ocorre o quadro clínico é possível observar em necropsia: anemia, ligeira icterícia subcutânea, acentuada icterícia hepática, esplenomegalia, rins friáveis, congestão e edema pulmonar (Aguirre et al., 2009).

3.4. Transmissão e Patogenia

A transmissão da bactéria depende de um vetor hematófago, que pode incluir carrapatos (*Haemaphysalis plumbeum*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus Bursa*, dentre outros), mosquitos (*Aedes camptorhynchus*, *Ae. aegypti* e *Culex annulirostris*), piolhos (*Polyplax serrata* e *P. spinulosa*) e pulgas (*Ctenocephalides felis*) (Reagan et al., 2016; Biondo et al., 2009; Neimark; Hoff; Ganter, 2004; Neimark et al., 2001). Também é possível a transmissão mecânica e iatrogênica por meio de agulhas compartilhadas, tosquia e marcação dos animais (Aguirre et al., 2009).

São descritos diversos mecanismos de virulência, dentre eles a produção de radicais livres que causam danos à membrana da célula hospedeira; secreção de enzimas levando a lesão tecidual local; mutações cromossômicas; e desenvolvimento de anticorpos auto-ímmunes (Messick, 2004).

3.5. Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado pela visualização do agente infeccioso aderido à membrana eritrocitária no exame do esfregaço sanguíneo de rotina. Entretanto, este método de diagnóstico possui baixa sensibilidade, dependendo do grau de parasitemia, agravado ainda pela ação do anticoagulante EDTA (etileno-diamino-tetracético de sódio ou potássio), o qual causa desprendimento do agente dos eritrócitos, gerando resultados falsos negativos (Tasker, 2006). Atualmente, a PCR (convencional e quantitativa) é considerada o método diagnóstico definitivo para detecção e identificação do agente envolvido e o principal gene utilizado para a caracterização molecular é o 16S rRNA (Messick; Berent; Cooper, 1998).

3.6. *Mycoplasma ovis*

Mycoplasma ovis (anteriormente *Eperythrozoon ovis*), foi descrito pela primeira vez na África do Sul por Neitz et al. (1934), é o principal agente causador da hemoplasmose em pequenos ruminantes e ruminantes silvestres (Deshuillers et al., 2014). Morfologicamente pode ser redondo ou oval, apresentando entre 0,3 e 0,4 µm de diâmetro, aderido à membrana de eritrócitos ou livres no plasma sanguíneo (Neimark et al., 2004). Seu primeiro relato molecular ocorreu na Hungria (Hornok et al., 2012).

Diferenças morfológicas entre *M. ovis* detectado em caprinos e ovinos foi observado na Austrália, onde a bactéria aderida a eritrócitos de caprinos eram menores com formato de anéis ou cocos enquanto em ovinos eram apenas grandes anéis. Caprinos possuem menor bacteremia que ovinos, além de menor duração. Sendo reservatórios competentes para a hemoplasmose, mesmo quando a bacteremia é indetectável (Daddow, 1979a; Daddow, 1979b).

Na Hungria em 2009 foi sugerida a existência uma nova espécie de *Mycoplasma* parasitando ovinos, denominado ‘*Candidatus Mycoplasma haemovis*’. Baseando-se no diagnóstico molecular utilizando o gene 16S rRNA, cinco animais apresentaram um isolado semelhante apenas 96,8–97,9% com sequências de *M. ovis* depositados no banco genético (Hornok et al., 2009). Porém em 2014, por meio do sequenciamento do genoma de uma cepa de *M. ovis* proveniente de Michigan - EUA, foi observado que se tratava de um mesmo microorganismo que possui duas cópias diferentes do gene 16S rRNA e não duas espécies distintas (Deshuillers et al., 2014).

O genoma de *M. ovis* é composto por 702.511 pares de base (pb) em um único cromossomo circular, basicamente composto por 31,7% de G+C, sendo bastante semelhante ao

genoma das outras espécies de hemoplasmas, porém com a presença de duas cópias diferentes do gene 16S rRNA. Foram encontradas 801 sequências codificadoras de proteínas (Deshuillers et al., 2014).

Em caprinos, os relatos são escassos com prevalência variando de ausente na Austrália e Tunísia (Daddow., 1979; Mason et al., 1989; Rjeibi et al., 2015), 20% na Hungria (Hornok et al., 2012) e 94% na Malásia (Jesse et al., 2015). Não há relatos na América do Sul. Entretanto, no Brasil existem relatos de *M. ovis* em cervídeos (*Blastocerus dichotomus*, *Ozotocerus bezoarticus*, *Mazama nana*, *Mazama americana*) de cativeiro (Grazziotin et al., 2011a,b) e em ovinos na Argentina (Aguirre et al., 2009).

A transmissão de *M. ovis* assim como dos outros hemoplasmas ainda não é bem compreendida, porém acredita-se que estes sejam transmitidos por artrópodes hematófagos que parasitam estes animais em todo o mundo (Neimark et al., 2004). No Irã, carrapatos dos gêneros *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* e *Dermacentor*, são apontados como vetores para micoplasmas (Hashemi-Fesharki, 1997).

3.7. Caprinos

A espécie caprina (*Capra hircus* – Linnaeus 1758) foi uma das primeiras a ser domesticada pelo homem, por volta de 7.000 a.C., no Sudeste Asiático. Estão distribuídos por todo o mundo devido a sua alta capacidade de adaptação, mas principalmente nos trópicos, regiões secas e países em desenvolvimento. Essa adaptação resulta de seleção natural e artificial, sendo esta espécie moldada para produção de carne, leite, couro e outros (Galal, 2005).

O efetivo do rebanho caprino no Brasil atualmente é composto por 9.614.722 animais, sendo que destes 8.909.076 estão situados na região Nordeste, representando 92,66% do rebanho total do país. A Paraíba especificamente possui 566.576 caprinos (IBGE, 2015). Apesar de possuir mais de 90% do efetivo do rebanho caprino, o Nordeste tem baixos níveis de produção quando comparado com as regiões Sul e Sudeste, que apesar de menor efetivo, possuem um maior aproveitamento produtivo. Acredita-se que isso se deve ao fato do Sul e Sudeste utilizarem animais com melhor genética e sistema de produção mais especializado (Lopes et al., 2012).

A produção caprina na Paraíba se caracteriza por uma grande variedade de raças como também a miscigenação dessas raças, com uma falta de direcionamento produtivo, não havendo distinção quanto às aptidões (carne, leite ou carne e leite). O sistema de produção é

predominantemente extensivo, sem uso de técnicas de manejo e escrituração zootécnica. Quando observada apenas a produção leiteira, esse sistema pode variar de intensivo (não muito frequente) a extensivo. Durante a época de chuva os animais alimentam-se extensivamente da vegetação da Caatinga, e durante a seca são suplementados com grãos e farelos (Costa et al., 2008).

3.8 Impactos em Saúde Pública

Diversos estudos demonstram a capacidade zoonótica de diversos hemoplasmas. No Brasil, um relato de um paciente HIV positivo coinfectado com *M. haemofelis* e *Bartonella henselae*, foi realizado a partir do diagnóstico molecular com base no 16S ribossomal. Foi sugerido que a infecção ocorreu pelo contato do paciente imunodeprimido com seus animais de estimação, pois o mesmo possuía cinco gatos e diversas escoriações nas mãos e nos braços (Dos Santos et al., 2008).

Mycoplasma ovis foi detectado em seres humanos, alertando para sua capacidade de infecção e caráter zoonótico. O primeiro relato ocorreu em uma médica veterinária do Texas - EUA, que apresentava dormência de membros, febre, náuseas, mal estar, alterações motoras e neurológicas. Análises moleculares demonstraram uma coinfeção com duas variantes de *M. ovis* e *B. henselae* (Sykes et al., 2010). O segundo relato foi realizado na Carolina do Norte - EUA. Pacientes com sintomas, pessoas expostas a picadas de artrópodes, médicos veterinários, auxiliares de médicos veterinários e contactantes de veterinários foram submetidos a testes moleculares para detecção de hemoplasmas e *B. henselae*. Como resultado, 11/296 (3,7%) pessoas foram positivas para *Mycoplasma* sp., sendo 9/11 (81,8%) para *M. ovis* (Maggi et al., 2013).

O risco de seres humanos adquirirem zoonoses provenientes de pequenos ruminantes é relativamente alto comparado a outras espécies de animais de produção. Alterações no manejo e nas instalações animais, somado a uma exposição do humano aos agentes zoonóticos pode aumentar o risco de surtos. Levando em consideração o fato de que surtos de zoonoses em animais precedem casos humanos, o estabelecimento de um sistema de vigilância animal ativo para detecção de novos casos é fundamental para o fornecimento de alerta precoce para veterinários e autoridades de saúde pública (Ganter, 2015).

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, D. H.; THOMPSON, C.; NEUMANN, R. D.; SALATIN, A. O.; GAIDO, A. B.; TORIONI DE ECHAIDE, S. Brote de micoplasmosis clínica por *Mycoplasma Ovis* en ovinos de Salta, Argentina. Diagnóstico clínico, microbiológico y molecular. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 41, n. 4, p. 212–214, 2009.
- ALENCAR, S.P.; MOTA, R.A.; COELHO, M.C.O.C.; NASCIMENTO, S.A.; ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, p.131-140, 2010.
- BIONDO, A. W.; DOS SANTOS, A. P.; GUIMARÃES, A. M. S.; VIEIRA, R. F. D. C.; VIDOTTO, O.; MACIEIRA, D. D. B.; ALMOSNY, N. R. P.; MOLENTO, M. B.; TIMENETSKY, J.; DE MORAIS, H. A.; GONZÁLEZ, F. H. D.; MESSICK, J. B. A review of the occurrence of Hemoplasmas (Hemotrophic Mycoplasmas) in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 18, n. 3, p. 1–7, 2009.
- COSTA, R. G.; ALMEIDA, C. C.; PIMENTA FILHO, E. C.; HOLANDA, E. V.; SANTOS, N. M. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região Semi-Árida do estado da Paraíba. Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 195–205, 2008.
- DADDOW, K. N. The natural occurrence in a goat of an organism resembling *Eperythrozoon ovis*. **Australian Veterinary Journal**, v. 55, p. 605–606, 1979a.
- DADDOW, K. N. The transmission of a sheep strain of *Eperythrozoon ovis* to goats and the development of a carrier state in the goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 55, n. 12, p. 605, Dec. 1979b.
- DESHUILLERS, P. L.; SANTOS, A. P.; DO NASCIMENTO, N. C.; HAMPEL, J. A.; BERGIN, I. L.; DYSON, M. C.; MESSICK, J. B. Complete genome sequence of *Mycoplasma ovis* strain Michigan, a hemoplasma of sheep with two distinct 16S rRNA genes. **Genome Announcements**, v. 2, n. 1, 2014.
- DIECKMANN, S. M.; WINKLER, M.; GROEBEL, K.; DIECKMANN, M. P.; HOFMANN-LEHMANN, R.; HOELZLE, K.; WITTENBRINK, M. M.; HOELZLE, L. E. Haemotrophic mycoplasma infection in horses. **Veterinary Microbiology**, v. 145, n. 3-4, p. 351–353, 2010.
- DOS SANTOS, A. P.; DOS SANTOS, R. P.; BIONDO, A. W.; DORA, J. M.; GOLDANI, L. Z.; DE OLIVEIRA, S. T.; DE SÁ GUIMARÃES, A. M.; TIMENETSKY, J.; DE MORAIS, H. A.; GONZÁLEZ, F. H. D.; MESSICK, J. B. Hemoplasma infection in HIV-Positive patient, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1922–1924, 2008.
- GALAL, S. Biodiversity in goats. **Small Ruminant Research**, v. 60, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 75–81, 2005.
- GANTER, M. Zoonotic risks from small ruminants. **Veterinary Microbiology**, v. 181, n. 1-2, p. 53–65, 2015.
- GRAZZIOTIN, A. L.; DUARTE, J. M. B.; SZABÓ, M. P. J.; SANTOS, A. P.; GUIMARÃES, A. M. S.; MOHAMED, A.; VIEIRA, R. F. D. C.; DE BARROS FILHO, I. R.;

BIONDO, A. W.; MESSICK, J. B. Prevalence and molecular characterization of *Mycoplasma ovis* in selected free-ranging Brazilian deer populations. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 47, n. 4, p. 1005–11, 2011a.

GRAZZIOTIN, A. L.; DUARTE, J. M. B.; SZABÓ, M. P. J.; SANTOS, A. P.; GUIMARÃES, A. M. S.; MOHAMED, A.; VIEIRA, R. F. D. C.; DE BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; MESSICK, J. B. *Mycoplasma ovis* in captive cervids: Prevalence, molecular characterization and phylogeny. **Veterinary Microbiology** v. 152, p. 415–419, 2011b.

GRISOTTI, M. Doenças infecciosas emergentes e a emergência das doenças: Uma revisão conceitual e novas questões. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 1095–1104, 2010.

HASHEMI-FESHARRKI, R. Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. **Parassitologia**. v. 39, n2, p. 115-7, 1997.

HORNOK, S.; HAJTÓS, I.; MELI, M. L.; FARKAS, I.; GÖNCZI, E.; MEILI, T.; HOFMANN-LEHMANN, R. First molecular identification of *Mycoplasma ovis* and '*Candidatus M. Haemoovis*' from goat, with lack of haemoplasma PCR-Positivity in lice. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 60, n. 3, p. 355–60, 2012.

HORNOK, S.; MELI, M. L.; ERDOS, A.; HAJTÓS, I.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Molecular characterization of two different strains of Haemotropic Mycoplasmas from a sheep flock with fatal haemolytic anaemia and concomitant *Anaplasma ovis* infection. **Veterinary Microbiology**, v. 136, n. 3-4, p. 372–377, 2009.

IBGE. 2015 **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>[Acessado em: 12 de oct 2016]

JESSE, F.; JAZID, N.; MOHAMMED, K.; TIJJANI, A.; CHUNG, E.; ABBA, Y.; SADIQ, M.; SAHAREE, A. Hemotropic *Mycoplasma ovis* infection in goats with concurrent gastrointestinal parasitism in Malaysia. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 2, n. 4, p. 464, 2015.

LOPES, F. B.; DA SILVA, M. C.; MIYAGI, E. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; FACÓ, O.; GUIMARÃES, R. F.; JÚNIOR, O. A. de C.; MCMANUS, C. M. Spatialization of climate, physical and socioeconomic factors that affect the dairy goat production in Brazil and their impact on animal breeding decisions. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1073–1081, 2012.

MAGGI, R. G.; COMPTON, S. M.; TRULL, C. L.; MASCARELLI, P. E.; MOZAYENI, B. R.; BREITSCHWERDT, E. B. Infection with Hemotropic Mycoplasma species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 10, p. 3237–3241, 2013.

MASON, R. W.; CORBOULD, A.; STATHAM, P. A serological survey of *Eperythrozoon ovis* in goats and sheep in Tasmania. **Australian Veterinary Journal**, v. 66, n. 4, p. 122–3, 1989a.

MASON, R. W.; CORBOULD, A.; STATHAM, P. Experimental *Eperythrozoon ovis* infection in goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 66, n. 7, p. 221–2, Jul. 1989b.

MESSICK, J. B. Hemotrophic Mycoplasmas (Hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology**, v. 33, n. 1, p. 2–13, 2004.

MESSICK, J. B.; BERENT, L. M.; COOPER, S. K. Development and evaluation of a PCR-based assay for detection of *Haemobartonella felis* in cats and differentiation of *H. felis* from related bacteria by restriction fragment length polymorphism analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 462–466, 1998.

MILLAN, J.; LOPEZ-ROIG, M.; DELICADO, V. V.; SERRA-COBO, J.; ESPERON, F. Widespread infection with Hemotropic Mycoplasmas in bats in Spain, including a hemoplasma closely related to 'Candidatus Mycoplasma Hemohominis'. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 39, p. 9–12, Jan. 2015.

NEIMARK, H.; HOFF, B.; GANTER, M. *Mycoplasma ovis* comb. nov. (Formerly *Eperythrozoon ovis*), an Eperythrocytic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 365–371, 2004.

NEIMARK, H.; JOHANSSON, K. E.; RIKIHISA, Y.; TULLY, J. G. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of 'Candidatus Mycoplasma Haemofelis', 'Candidatus Mycoplasma Haemomuris', 'Candidatus Mycoplasma Haemosuis' and 'Candidatus Mycoplasma wenyonii'. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 891–899, 2001.

NEIMARK, H.; JOHANSSON, K. E.; RIKIHISA, Y.; TULLY, J. G. Revision of haemotrophic mycoplasma species names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 683, 2002.

REAGAN, K. L.; CLARKE, L. L.; HAWLEY, J. R.; LIN, P.; LAPPIN, M. R. Assessment of the ability of aedes species mosquitoes to transmit feline *Mycoplasma Haemofelis* and 'Candidatus Mycoplasma Haemominutum'. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1–5, 2016.

RJEIBI, M. R.; DARGHOUTH, M. A.; OMRI, H.; SOUIDI, K.; REKIK, M.; GHARBI, M. First molecular isolation of *Mycoplasma ovis* from small ruminants in North Africa. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 82, n. 1, p. 912, 2015.

SYKES, J. E.; LINDSAY, L. L.; MAGGI, R. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 10, p. 3782–3785, 2010.

TANAKA, H.; HALL, W. T.; SHEFFIELD, J. B.; MOORE, D. H. Fine structure of *Haemobartonella muris* as compared with *Eperythrozoon coccoides* and *Mycoplasma pulmonis*. **Journal of Bacteriology**, v. 90, n. 6, p. 1735–1749, 1965.

VIEIRA, R. F. C.; MOLENTO, M. B.; DOS SANTOS, L. C.; MORAES, W.; CUBAS, Z. S.; SANTOS, A. P.; GUIMARAES, A. M. S.; MOHAMED, A.; BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; MESSICK, J. B. Detection of a novel hemoplasma based on 16S rRNA gene DNA in captive and free-ranging capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Veterinary Microbiology**, v. 139, n. 3-4, p. 410–413, 2009.

VIEIRA, T. S. J. W.; VALENTE, J. D. M.; SILVA, N. B.; SICUPIRA, P. M. L.; BARROS-FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; VIEIRA, R. F. da C.; VIDOTTO, O. Comparative study of two serological tests for detection of anti-*Theileria equi* antibodies in horses estudo comparativo de dois testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-*Theileria equi* em equinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 4361–4364, 2015.

4. ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO –

Periódico Tick and Tick Borne Diseases

4.1. Prevalence and factors associated with *Mycoplasma ovis* infection in goat farms from northeastern Brazil

Summary

Although *Mycoplasma ovis* (formerly *Eperythrozoon ovis*) have been described in small ruminants worldwide, data on *M. ovis* in goats remain scarce. Accordingly, the aims of the present study were to i) determine the prevalence of hemoplasmas in goats, ii) identify the tick species parasitizing the animals, and iii) determine factors associated with infection in five dairy and three beef goat farms from the Paraíba State, northeastern Brazil. A total of 158/402 (39.3%) goats were positive for *M. ovis* by PCR. Sequencing of PCR positive samples has shown $\geq 99\%$ identity with multiple *M. ovis* 16S rDNA sequences deposited in GenBank, including *M. ovis* isolates from humans. Dairy (OR = 2.15; 95% CI: 1.40-3.32%; $P = 0.0004$) and anemic goats (OR = 2.39; 95% CI: 1.54-3.71%; $P = 0.00007$) were more likely to be infected than beef and non-anemic animals, respectively. *Amblyomma parvum* (49/52, 94.23%) and *Rhipicephalus microplus* (3/52, 5.77%) were the tick species found, with no significant association between the presence of ticks and infection by *M. ovis* ($P = 0.1128$). This is the first reportedly molecular detection of *M. ovis* infection in goats from South America. In conclusion, *M. ovis* is highly prevalent in goats from northeastern Brazil, mainly in dairy animals. Due to the zoonotic potential of *M. ovis*, the high prevalence found herein associated to the hand milking production system may represent a serious public health threat for dairy goat workers.

Keywords: Hemotropic mycoplasma, hemoplasma; *Mycoplasma* sp., small ruminants; anemia

Introduction

Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) are small pleomorphic bacteria, which attach to the surface of erythrocytes and may cause hemolytic anemia in a wide variety of mammals worldwide (Messick, 2004). Based on the detection of 16S rRNA gene fragments, two hemoplasma species have been found infecting small ruminants, *Mycoplasma ovis* (formerly *Eperythrozoon ovis*) and ‘*Candidatus Mycoplasma haemovis*’ (Hornok et al., 2009). However, the complete genome sequence of *M. ovis* strain Michigan exhibits the presence of two copies of the 16S rRNA genes corresponding to the previously reported sequences for *M. ovis* and ‘*Ca. M. haemovis*’ (Deshuillers et al., 2014). Thus, whether these hemoplasmas are a single species or separate strains/species remains to be fully established.

Despite *M. ovis* has been identified as a cause of hemolytic crisis in sheep (Neimark et al., 2004), goats may develop shorter and less severe bacteremia, and may act as chronic, latent infected and/or hemoplasma carriers (Daddow, 1979). Data on *M. ovis* in goats have been scarce with prevalence ranging from absent in Australia and Tunisia (Daddow, 1979b; Mason; Corbould; Statham, 1989b; Rjeibi et al., 2015), 20% in Hungary (Hornok et al., 2012), up to 94% in Malaysia (Jesse et al., 2015). In South America, to the authors’ knowledge, no study has been performed on prevalence and factors associated with *M. ovis* in goats to date. However, *M. ovis* has already been detected in deer from Brazil (Grazziotin et al., 2011a; Grazziotin et al., 2011b) and in sheep from Argentina (Aguirre et al., 2009), showing highly likelihood of infection in domestic goats.

Goat production has been of great socioeconomic importance in northeastern Brazil, which concentrates 91% of goat herds (EMBRAPA, 2014). Characterized by a tropical climate and limited economical resources, goat farming in this region has been mostly for sustaining livelihoods (IBGE, 2013). Considering that *M. ovis* has already been found infecting human beings (Sykes et al., 2010; Maggi et al., 2013), close and frequent human-animal contact on

local goat production associated with the presence of arthropod vectors may represent a risk for public health. Accordingly, the aims of the present study were to i) determine the prevalence of hemoplasmas in goats, ii) identify the tick species parasitizing the animals, iii) determine factors associated with infection in five dairy and three beef goat farms from the Paraíba State, northeastern Brazil.

Material and Methods

This study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation and Animal Welfare at Universidade Federal da Paraíba (protocol 3305/14), and conducted according to the ethical principles of animal experimentation, adopted by the Brazilian College of Animal Experimentation.

Cross-sectional study

The sample size was calculated (Thrusfield, 1995), based on an estimated number of 478.000 goats (IBGE, 2013) with an expected prevalence of 50%. Thus, the minimum sample size required for detecting a difference with a 95% confidence level at 5% has been estimated as $n = 384$. A total of 402 goat blood samples (35 males and 367 females) were collected from five dairy and three beef farms in the state of Paraíba, located at the following cities Algodão de Jandaíra ($6^{\circ} 53.531' S 35^{\circ} 59.096' W$), Caturité I ($7^{\circ} 24.562' S 36^{\circ} 0.096' W$), Caturité II ($07^{\circ} 23.261' S 036^{\circ} 03.878' W$), Gurjão ($7^{\circ} 14.747' S 36^{\circ} 33.084' W$), Serra Branca ($7^{\circ} 29.259' S 36^{\circ} 42.335' W$), Cuité ($6^{\circ} 38.356' S 36^{\circ} 09.733' W$), Olivedos ($06^{\circ} 53.039' S 36^{\circ} 13.923' W$), and Juarez Távora ($7^{\circ} 09.437' S 35^{\circ} 36.051' W$) (Figure 1). As the only farm with certification for high-quality management practices by the Brazilian Ministry of Agriculture,

the beef farm at Juarez Távora was used as the reference farm for statistical comparisons.

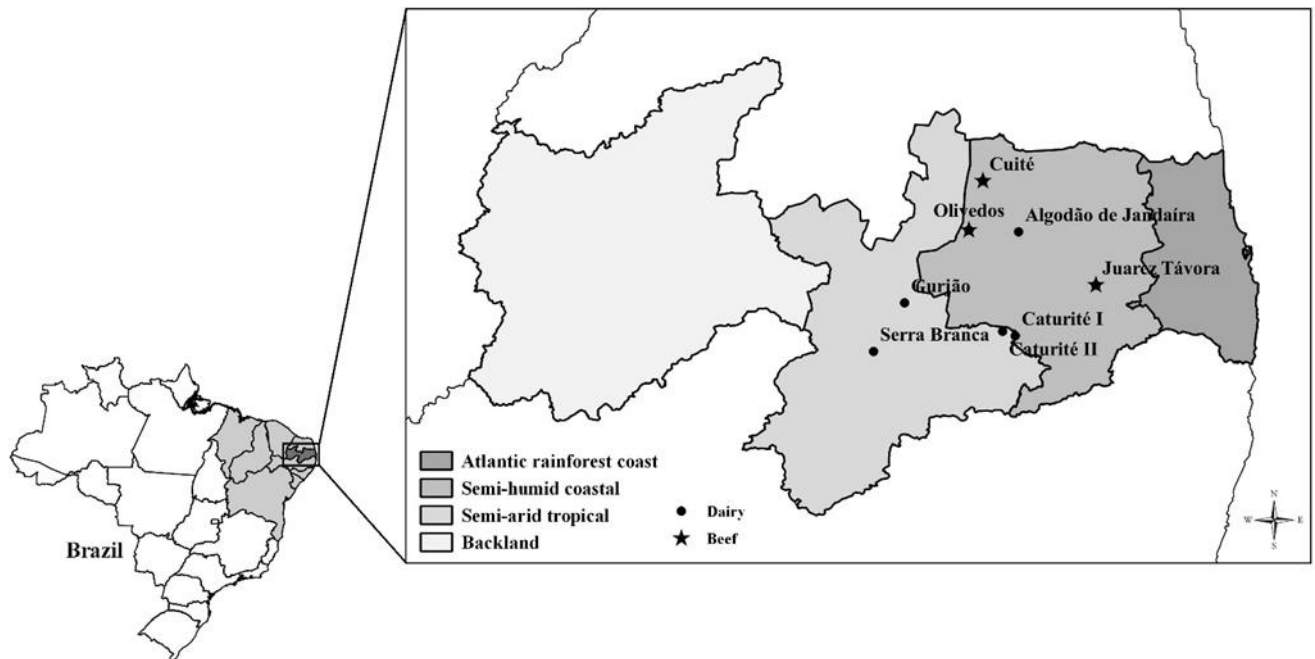


Figure 01: Geographical locations of farms (dairy and beef) used in the study and limits of the climate in Paraíba, Northeast, Brazil.

Sampling

Goat blood samples (up to 5 mL) were collected by venipuncture of the jugular vein using commercial tubes containing EDTA (BD Vacutainer[®], Franklin Lakes, NJ, USA). An epidemiological questionnaire was given to each farm owner addressing: age, gender and presence of ticks. The age of the goats was stratified into groups of \leq one year and $>$ one year.

A total of 52 tick specimens were collected from the goats. Ticks were removed using a commercial hook (O'Tom / Tick Twister[®], H3D Inc., Lavancia, France), and kept in 70% ethanol-labeled tubes for further classification according to morphological taxonomic keys (Aragão and Fonseca., 1961; Guimarães et al., 2001; Onofrio et al., 2006; Martins et al., 2010).

Packed cell volume and total plasma protein

The packed cell volume (PCV) and total plasma protein (TPP) were measured by routine centrifugation and refractometry techniques; a PCV of <0.22 L/L and a TPP of >0.75 g/L were used as indicators of anemia and hyperproteinemia, respectively (Feldman et al., 2000). Thereafter, aliquots were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until molecular testing.

DNA extraction

DNA was extracted from 200 μL of whole blood using a commercial available kit (Illustra™ blood genomicPrep Mini Spin Kit, GE Healthcare, Little Chalfont, UK), according to the manufacturer's instructions. Negative control purifications using ultra-pure water were performed in parallel to monitor cross-contamination in each batch of 30 samples.

PCR assays

A conventional PCR for the housekeeping gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was performed to ensure successful DNA extraction, as previously described (Birkenheuer et al., 2003).

Samples were screened for hemoplasmas using previously described pan-hemoplasma primers targeting the 16S rDNA gene (~900 bp) (Dieckmann et al., 2010). Briefly, 5 μL of DNA was used as a template for the amplification, in a total reaction mixture of 25 μL containing 1X PCR buffer (Invitrogen, Life Technologies, São Paulo, Brazil), 0.2 mM of each deoxynucleoside triphosphate (dNTP), 1.0 U of *Taq* DNA polymerase (Platinum® *Taq* DNA Polymerase, Invitrogen) and 0.2 mM of each primer. After initial denaturation at $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ for five min, the amplification consisted of 40 cycles of $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 60 s, $59\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 45 s and $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 60 s, for denaturation, annealing and extension, respectively, with a final extension at $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for five min; the samples were kept at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analyzed. A goat-positive blood sample for *M.*

ovis and ultrapure water were used as positive and negative controls, respectively. The amplified PCR products were subjected to gel electrophoresis in 1.5% agarose gels for one hour at 100V, followed by SYBR safe staining (6 µg/mL; SYBR[®] Safe DNA Gel Stain, Invitrogen, CA, USA), and were viewed under a 312 nm UV light transilluminator. The gels were subsequently photographed using Kodak DC290 (New York, USA).

Sequencing

A fragment (~900 bp) of the 16S rDNA gene from eight *M. ovis* isolates were sequenced using a set of previously described primers (Dieckmann et al., 2010). PCR products were purified from the agarose gel (PureLink Quick Gel Extraction Kit, Invitrogen), evaluated by spectrophotometry for concentration and purity (Pico100 Picodrop[®] Spectrophotometer, Picodrop Limited, Hinxton, UK), and directly pair-ended sequenced by Sanger method using 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Thereafter, sequences were subjected to BLASTn analysis (Altschul et al., 1990) for determining the identity with the sequences deposited in GenBank[®] database. The nucleotide sequences of the *M. ovis* amplified herein were submitted to GenBank database (Genbank accession no. KU512717, KU512718 and KU512719).

Statistical analysis

A non-parametric Mann–Whitney test was used to compare the PCV and TPP concentrations between *Mycoplasma*-infected and non-infected goats. The Chi-square or Fisher's exact test was used to determine the difference between whether individual factors were associated with hemoplasma infection. Odds ratio (OR), 95% confidence interval and *P*-values were calculated separately for each variable. Results were considered significantly different when $P < 0.05$. Data was compiled and analyzed by Epi Info[™] Software (version 7.1.5, CDC).

Results

PCR assays

All samples consistently amplified the GAPDH gene. A total of 158/402 (39.30%; CI 95%: 34.42-44.12%) goats were positive for *Mycoplasma* sp. by PCR. All goat farms had at least one *Mycoplasma*-infected animal. The prevalence of *Mycoplasma* sp. for each variable evaluated has been summarized (Table 1).

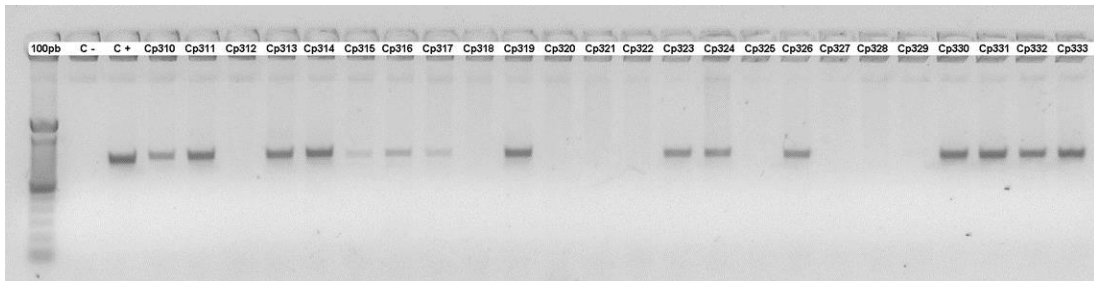


Figure 02: Electrophoresis gel from the PCR for hemoplasmas

PCV and TPP

The mean PCV concentration for goats was 0.24 L/L. A total of 118/402 (29.35%; 95% CI: 25.00-34.11%) goats were anemic. Anemic goats were more likely to be infected by *Mycoplasma* sp. than non-anemic animals (OR = 2.39; 95% CI: 1.54-3.71%; $P = 0.00007$).

The mean TPP concentrations for goats was 80.0 g/L. A total of 266/402 (66.17%; 95% CI: 61.28-70.74%) goats were hyperproteinemic and 1/402 (0.25%; 95% CI: 0.01-1.60%) were hypoproteinemic. No difference ($P = 0.0880$) was found in mean TPP between positive (79.0 g/L) and *Mycoplasma*-PCR negative goats (80.0 g/L). However, 131/326 (40.18%; 95% CI: 35.0-45.6%) hyperproteinemic goats tested positive for *Mycoplasma*.

Ticks

A total of 52 ticks (43 females, eight males and one larvae) were collected from 26/402 (6.47%; CI 95%: 4.45-9.31%) goats, ranging from one to eight ticks per animal, all from the beef farm at Olivedos. Two tick species were identified: *Amblyomma parvum* (49/52, 94.23%) and *Rhipicephalus microplus* (3/52, 5.77%). No significant association was found between the presence of ticks and infection by *Mycoplasma* sp. ($P = 0.1128$).

Associated factors

With the exception of the dairy farm at Caturité I and Algodão ($P > 0.05$), goats from all the remaining farms were more likely to be *Mycoplasma*-PCR positive than those from the beef farm at Juarez Távora. Dairy goats ($P = 0.0004$), > 1 year ($P = 0.000003$) and females ($P = 0.0371$) were more likely to be infected by *Mycoplasma* sp. No association between positivity to *Mycoplasma* sp. and the presence of ticks ($P = 0.1164$) was observed (Table 1).

Sequencing

All *Mycoplasma*-positive samples sequenced showed $\geq 99\%$ identity with multiple *M. ovis* 16S rDNA gene sequences deposited in GenBank (Genbank accession no. CP006935, JF931135, AF338268, KU983745 and EU828582), including *M. ovis* isolates from humans from USA (Genbank accession no. KF313922, GU230144).

Discussion

In the present study, *M. ovis* was detected in goats from northeastern Brazil. To the authors' knowledge, this is the first report of a molecular investigation of *M. ovis* infection in goats from South America.

Despite being numerous reported in other domestic mammals, hemoplasmosis remains largely neglected in goats. To date, only four studies have used molecular techniques for *M. ovis* investigation in goats, with prevalence ranging from absent in Tunisia and Morocco (Lbacha et al. 2015; Rjeibi et al., 2015), 20% in Hungary (Hornok et al., 2012), to 26% and 41% in China (Song et al., 2014). Herein, 39% goats were positive for *M. ovis* by PCR, with dairy goats being 2 times more likely to be infected than beef animals ($P = 0.0004$). In fact, dairy animals may be more exposed to blood-feeding arthropods than beef ones depending on the type of raise system (intensive or extensive), or simply due to the fact that they live longer periods in the farms (Paul et al., 2014).

An occupationally risk for hemoplasma infection, particularly in veterinarians, veterinarian technicians and people related to veterinary activities has been suggested based on *M. ovis* detection in a veterinarian coinfecting with *Bartonella henselae* (Sykes et al., 2010), and *M. ovis*-like organisms were found infecting people with extensive arthropod and animal contact (Maggi et al., 2013). A previous study has already described a high prevalence of *Mycoplasma suis*-like among farmers and veterinarians working with swine in China (Yuan et al., 2009). In the present study, an overall *M. ovis* prevalence of 72.7% was observed in dairy goats. Small goat farms in northeastern Brazil have been mostly under hand milking production system, lacking adequate hygiene procedures (Chapaval et al., 2009). Thus, the association of the high prevalence of *M. ovis*, the frequent and long period of animal contact during milking procedures, abundance of arthropod vectors and poor sanitary settings may pose a serious public health threat for this emerging zoonotic pathogen in local goat workers. Further investigations in goat farm workers should be conducted in order to fully establish the *M. ovis* zoonotic pattern.

In the present study, all goat farms had at least one *M. ovis*-positive animal, suggesting that this organism has been widespread in goats from Paraíba State. Dairy farms from Cuité, Algodão de Jandaíra and Caturité I presented the lowest *M. ovis* prevalences with 4%, 8.8%

and 22%, respectively. Although goat farms located in these cities periodically performed ectoparasite control and rotational grazing, which may have reduced the environmental occurrence of tick larvae (Furlong, 1998), no association between *M. ovis* infection and the presence of ticks was observed ($P = 0.1164$). Therefore, local factors other than ectoparasite control may have reduced the *M. ovis* prevalence among farms. Additionally, goats > 1 yr were more likely to be infected by *M. ovis* than goats ≤ 1 yr ($P = 0.000003$), reinforcing that older animals may enter a prolonged carrier state for hemoplasmas (Hornok et al., 2012).

Anemic goats were 2.3 times more likely to be infected by *M. ovis* than non-anemic animals ($P = 0.00007$). Previous studies have stated that *M. ovis* may present a low pathogenicity to goats (Hornok et al., 2012), with anemia only observed when the animals were coinfecting by *Ehrlichia ewingii* (Meichner et al., 2015) and *Strongyloides* spp. (Abdullah et al., 2013). Considering that 94/158 (59.5%) anemic goats tested negative for *M. ovis* in the present study, nutritional factors, ingestion of toxic plants and/or infection by *Haemonchus* sp., *Babesia* sp., *Theileria* sp. and *Anaplasma ovis* not evaluated herein may be the causes of anemia.

In conclusion, *M. ovis* is highly prevalent in goats from northeastern Brazil, mainly in dairy animals. The propitious tropical climate favoring the abundance of arthropod vectors associated to hand milking production system may represent a serious public health burden for dairy goat workers.

Acknowledgements

The authors would like thank the National Counsel of Technological and Scientific Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq) for financial support (grant number 476085/2013-6). This study was part of a Master's degree for Carolina Machado at the Universidade Federal do Paraná. Carolina Machado and Nelson Santos

were sponsored by a fellowship from the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) at the time of this study.

REFERENCES

- Abdullah, F. F. J, L. Adamu, M. Hero, A. B. Jamal, A. Y. Osman, A. W. Haron, D N. Awang and N. Roslim, 2013: Parasitic Gastro-Enteritis (PGE) Concurrent with Eperythrozoonosis in a Goat: A Case Report. *J. Agricul. Vet. Sci.* 4, 63–66.
- Aguirre, D. H., C. Thompson, R. D. Neumann, A. O. Salatin, A. B. Gaido and S. T. de Echaide, 2009. Brote de micoplasmosis clínica por *Mycoplasma ovis* em ovinos de Salta, Argentina. diagnóstico clínico, microbiológico y molecular. *Ver. Argent. Microbiol.* 41, 212-4.
- Aragão H. B. and F. Fonseca, 1961: Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 59, 115–129.
- Birkenheuer, A. J., M.G. Levy and E. B. Breitschwerdt, 2003: Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *J. Clin. Microbiol.* 41, 4172–7.
- Chapaval, L., A. M. Mororó, M. O. Ramos and G. A. Viana, 2009. Situação Atual da Caprinocultura Leiteira no Brasil Available at: <http://www.leiteenegocios.com.br/ln/index.php?codPag=2&codCat=17&codTopico=408> [Accessed Jun 28, 2016].
- Daddow, K. N., 1979: The transmission of a sheep strain of *Eperythrozoon ovis* to goats and the development of a carrier state in the goats. *Aust. Vet. J.* 55, 605.
- Deshuillers, P. L., A. P. Santos, N. C. do Nascimento, J. A. Hampel, I. L. Bergin, M. C. Dyson and J. B. Messick, 2014: Complete Genome Sequence of *Mycoplasma ovis* Strain Michigan, a Hemoplasma of Sheep with Two Distinct 16S rRNA Genes. *Genome Announc.* 2.
- Dieckmann, S. M., M. Winkler, K. Groebel, M. P. Dieckmann, R. Hofmann-Lehmann, K. Hoelzle, M. M. Wittenbrink and L. E. Hoelzle, 2010: Haemotrophic *Mycoplasma* infection in horses. *Vet. Microbiol.* 145, 351–3.
- EMBRAPA, 2014: Rebanho Caprino Rebanho Ovino. Available at: <https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Panorama+Nacional+Caprinocultura+e+Ovinocultura/39160f17-81e8-495f-837b-4233aa63832e?version=1.0> [Accessed Jun 22, 2016].
- Feldman, B. F., J.G. Zinkl, N. C., Jain and O.W. Schalm, 2000: Schalm's veterinary hematology, Lippincott Williams & Wilkins.
- Furlong, J., 1998: Poder infestante de larvas de *Boophilus microplus* (acari:ixodidae) em pastagem de *Melinis minutiflora*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria mutica*. *Ciê. Rural.* 28, 635–640.
- Grazziotin, A.L., A. P. Santos, A. M. Guimaraes, A. Mohamed, Z. S. Cubas, M. J. de Oliveira, L. C. dos Santos, W. de Moraes, R. F. Vieira, L. Donatti, I. R. de Barros Filho, A. W. Biondo and Messick JB., 2011a: *Mycoplasma ovis* in captive cervids: Prevalence, molecular characterization and phylogeny. *Vet Microbiol.* 152, 415–419
- Grazziotin, A.L., J. M. Duarte, M.P. Szabó, A.P. Santos, A. M. Guimarães, A. Mohamed, R. F. Vieira, I. R. de Barros Filho, A. W. Biondo and Messick JB., 2011b: Prevalence and

- molecular characterization of *Mycoplasma ovis* in selected free-ranging Brazilian deer populations. *J Wildl Dis.* 47, 1005–11.
- Guimarães, J. H., E. C. Tucci and D. M. Barros-Battesti, 2001: Ectoparasitos de Importância Veterinária, São Paulo: Plêiade.
- Hornok S., M. L. Meli, A. Erdos, I. Hajtós, H. Lutz and R. Hofmann-Lehmann, 2009. Molecular characterization of two different strains of haemotropic mycoplasmas from a sheep flock with fatal haemolytic anaemia and concomitant *Anaplasma ovis* infection. *Vet. Microbiol.* 136, 372-7.
- Hornok, S., I. Hajtós, M. L. Meli, I. Farkas, E. Gönczi, T. Meili and R. Hofmann-Lehmann, 2012: First molecular identification of *Mycoplasma ovis* and “Candidatus *M. haemoovis*” from goat, with lack of haemoplasma PCR-positivity in lice. *Acta Vet. Hung.* 60, 355–60.
- IBGE, 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Efetivos dos rebanhos*. Available at: <http://www.ibge.gov.br/home/> [Accessed May 7, 2015].
- Jesse, F., N. H. B. A. Jazid, K. Mohammed, A. Tijjani, E. L. T. Chung, Y. Abba, M. A. Sadiq and A. A. Saharee, 2015: Hemotropic *Mycoplasma Ovis* Infection in Goats With Concurrent Gastrointestinal Parasitism in Malaysia. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2, 464.
- Lbacha, H. A., S. Alali, Z. Zouagui, L. E. Mamoun, A. Rhalem, E. Petit, N. Haddad, C. Gandoin, H-J. Boulouis and R. Maillard, 2015. High Prevalence of *Anaplasma* spp. in Small Ruminants in Morocco. *Transbound Emerg Dis.*
- Maggi, R.G., S. M. Compton, C. L. Trull, P. E. Mascarelli, B. R. Mozayeni and E. B. Breitschwerdt, 2013: Infection with hemotropic *Mycoplasma* species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. *J. Clin Microbiol.* 51, 3237–41.
- Martins, J.R., J. Reck Jr., R. L. Doyle, N. L. N. da Cruz, A. W. de M. Vieira and U. A. Souza, 2010: *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae) parasitizing margay (*Leopardus wiedii*) in Rio Grande do Sul. *Ver. Bras. Parasitol. Vet.* 19, 189–191.
- Mason, R.W., A. Corbould and P. Statham, 1989a: A serological survey of *Eperythrozoon ovis* in goats and sheep in Tasmania. *Aust. Vet. J.* 66, 122–3.
- Mason, R.W., A. Corbould and P. Statham, 1989b: Experimental *Eperythrozoon ovis* infection in goats. *Aust. Vet. J.* 66, 221–2.
- Meichner, K., B. A. Qurollo, K. L. Anderson, C. B. Grindem, M. Savage, and E.B. Breitschwerdt, 2015: Naturally Occurring *Ehrlichia ewingii* and *Mycoplasma* sp. Co-Infection in a Goat. *J. Vet. Intern. Med.* 29, 1735–1738.
- Messick, J.B., 2004: Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Vet. Clin. Pathol/Am. Soc. Vet. Clin. Pathol.* 33, 2–13.
- Neimark, H., B. Hoff and M. Ganter, 2004: *Mycoplasma ovis* comb. nov. (formerly *Eperythrozoon ovis*), an epierythrocytic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 365–71.
- Onofrio, V.C., M.B. Labruna, A. Pinter, F. G. Giacomini and D. M. Barros- Battesti, 2006: Comentário e chaves para espécies do gênero *Amblyomma*. In *Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para a identificação de espécies*. São Paulo: ICTTD-3/Instituto Butantan, pp. 53–113.
- Paul, S., J. F. Agger, J. S. Agerholm and B., 2014. Markussen Prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* seropositivity in Danish beef and dairy cattle at slaughter adjusted for test uncertainty. *Prev. Vet. Med.* 113, 504-11.

- Rjeibi, M.R., M. A. Darghouth, H. Omri, K. Souidi, M. Rekik, and M. Gharbi, 2015. First molecular isolation of *Mycoplasma ovis* from small ruminants in North Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 82, 912.
- Song, W., Q. Song, L. He, Y. Zhou and J. Zhao, 2014: The establishment and application of a semi-nested PCR assay for the detection of *Mycoplasma ovis*. *Small Rum. Res.* 119, 176–181.
- Sykes, J.E. L. L. Lindsay, R. G. Maggi and E. B. Breitschwerdt, 2010: Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. *J. Clin. Microbiol.* 48, 3782–5.
- Thrusfield, M.1995. *Veterinary Epidemiology*, London: Blackwell Science Ltd.
- Yuan, C. L., A. B. Liang, C. B. Yao, Z. B. Yang, J.G. Zhu, L. Cui, F. Yu , N. Y. Zhu, X. W. Yang, X. G. Hua, 2009. Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. *Am. J. Vet. Res.* 70, 890-4.

Table 1. Prevalence of *M. ovis* in goats within each variable studied, Paraíba State, Northeastern Brazil.

Farm	Purpose	<i>M. ovis</i>		OR	95% CI	P-value
		+/n	(%)			
Algodão	Dairy	4/45	8.89	0.3333	0.01-1.12	0.0664
Caturité I	Dairy	11/50	22.00	0.9637	0.38-2.44	0.9377
Caturité II	Dairy	24/50	48.00	3.1538	1.35-7.37	0.0070
Gurjão	Dairy	29/45	64.44	6.1927	2.55-15.03	0.00002
Serra Branca	Dairy	47/60	78.33	12.3526	5.07-30.06	0.0000
Cuité	Beef	2/49	4.08	0.1454	0.03-0.69	0.0065
Olivedos	Beef	29/50	58.00	4.7183	2.01-11.09	0.0002
Juarez*	Beef*	12/53	22.64			
Age	>1	149/336	44.35	5.0463	2.42-10.53	0,000003
	≤1	9/66	13.64			
Gender	Female	150/367	40.87	2.3329	1.03-5.27	0.0370
	Male	08/27	22.86			
Presence of Ticks	Yes	14/26	53.85	1.8796	0.84-4.18	0.1164
	No	144/ 376	38.30			
Anemia	Yes	64/158	40.51%	2.3956	1.54-3.71	0.00007
	No	94/158	59.49%			
Production	Dairy	115/158	72.78%	2.1593	1.40-3.32	0.0004
	Beef	48/158	27.22%			

+, Number of positive animals; n, number of samples; 95% CI, 95% confidence interval.

* Reference goat farm

5. CONCLUSÕES

- Este é o primeiro relato de *Mycoplasma ovis* em caprinos da América do Sul;
- *Mycoplasma ovis* possui uma alta prevalência em caprinos do Nordeste brasileiro;
- *Amblyomma parvum* e *Rhipicephalus microplus* são encontrados infestando caprinos na Paraíba;
- Caprinos anêmicos têm mais chances de estarem infectados com *M. ovis* que caprinos não anêmicos;
- Caprinos leiteiros, machos, com mais de um ano apresentaram maior chance de estarem infectados por *M. ovis*;

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****NOTIFICAÇÃO**

João Pessoa, 25 de setembro de 2014
CEUA Nº 3305/14

Ilmo(a). **Rafael Felipe da Costa Vieira**
Departamento **Ciências Veterinárias - CCA - UFPB**

Orientando(a): **Rafael Felipe da Costa Vieira, (Mestrado)**

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba em sua reunião ordinária de **25/09/2014** analisou e **APROVOU** a execução do projeto **Caracterização epidemiológica de patógenos transmitidos por carrapatos, Leishmania sp., Toxoplasma gondii e Neospora caninum em caprinos e equinos do Estado da Paraíba.**

Com previsão de empregar **380 Caprinos, 380 Equídeos - Propriedades rurais.**

Para serem utilizados no período de **01/05/2014 a 31/07/2016**

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animal do CBiotec/UFPB

APÊNDICE A: Questionários Epidemiológicos**QUESTIONARIO EPIDEMIOLOGICO - CAPRINOS****DADOS PROPRIETARIO**

Propriedade	ID Animal	ID Amostra	Data coleta
<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
Proprietario			
<input type="text"/>			
Cidade	Telefone		
<input type="text"/>	<input type="text" value="###.###.####"/>		

ANIMAIS

1. Possui animais em casa?

SANEAMENTO

3. Qual a origem da agua de consumo?

rede publica poco rio/corrego mineral

4. Qual o destino do esgoto?

rede publica fossa ceu aberto rio/corregos

5. Qual o destino do lixo de sua casa?

coleta publica quintal queima

Ativar o Windows
Acesse Configurações para

rede publica poço rio/corrego mineral

4. Qual o destino do esgoto?

rede publica fossa céu aberto rio/corregos

5. Qual o destino do lixo de sua casa?

coleta publica quintal queima

6. Possui horta em casa?

7. Os vegetais são higienizados adequadamente?

FELIDEOS

8. Há felinos na propriedade?

9. Qual o destino das fezes?

solo fonte de água lixo comum

10. Tem livre acesso a criação e/ou aos reservatórios de alimentos dos animais?

11. É fornecido carne crua ou mal cozida a esses animais?

12. Tem livre acesso a restos placentários, fetos abortados ou tecidos fetais?

CANIDEOS

13. Ha presença de canideos na propriedade?

14. Qual destino das suas fezes?

solo fontes de agua lixo comum

15. Tem livre acesso a criaçao e/ou aos reservatorios de alimentos dos animais?

16. É fornecido carne crua ou mal cozida a esses animais?

17. Tem livre acesso a restos placentários, fetos abortados ou tecidos fetais?

SISTEMA REPRODUTOR

18. Ha relatos de repeticao de cio?

19. Nascimento de animais fracos, natimortos ou abortos?

20. Fetos mumificados ou macerados?

21. nascimento de animais com problemas articulares e/ou no sistema nervoso?

Ativar o Windows
Acesse Configurações para a

18. Na relação de reprodução de cio:

19. Nascimento de animais fracos, natimortos ou abortos?

20. Fetos mumificados ou macerados?

21. nascimento de animais com problemas articulares e/ou no sistema nervoso?

CONTROLE DE CARRAPATOS

22. Controle de carrapatos?

23. Qual produto?

Ivermectina Doramectina Colosso Cipemetrin

24. Uso de carrapaticida?

25. Frequencia controle carrapatos:

semestral 1x ano ano todo

26. Rotacao de principio ativo?

27. Presenca de carrapatos?

INFORMACOES INDIVIDUAIS

DADOS

ID Animal

Sexo

Fem Masc

Idade

Pelagem

Raça

- SRD
 BOER
 SAANEN
 PARDA ALPINA

Idade

- =<1
 >1

Aptidão

- Corte
 Leite
 Exposição

EXAMES

Hematócrito

Micoplasma

Coletado carrapato

Proteína Total

Neospora-RIFI-1:50

Espécie de carrapato

- A. parvum*
 R. (Boophilus) microplus
 A. parvum + *R. (Boophilus) microplus*

Hematócrito

- >=22 <22

Proteína Total

- <6.4 >7
 6.4-7

Ativar o Windows
 Acesse Configurações para

Proprietario

1. Idade do criador?

- 20-30 31-40 41-50 51-60 61-70 71-80

2. Estado civil?

- Solteiro Casado Separado Viuvo Concubinato

3. Escolaridade

- Analfabeto EF Completo EM Completo ES Incompleto
 EF Incompleto EM Incompleto ES Completo

4. Voce ou outras pessoas da familia ou trabalhadores ja sofreram alguma doenca relacionada a criaçao de animais?

5. Tamanho do rebanho

- 2-10 11-20 21-30 31-40 41-50 Acima 50

6. Sistema de criaçao?

- Extensivo Intensivo Semi intensivo

7. Fonte de agua

- Parada Corrente Parada e corrente

8. Qual o tipo de alimentaçao?

Ativar o Windows
Acesse Configurações para a

6. Sistema de criaçao?

- Extensivo Intensivo Semi intensivo

7. Fonte de agua

- Parada Corrente Parada e corrente

8. Qual o tipo de alimentacao?

- Capim Racao Outra Capim racao e palma
 Feno Palma Capim e racao Capim e outro

9. Rotacao de pastagem?

10. Animais recebem mineralizacao?

11. Criacao consorciada?

12. Disturbios reprodutivos nos animais?

13. Utiliza animais de outra propriedade pra reproducao?

14. Crias recebem colostro?

15. Tratamento temico no colostro?

16. Tem caes ou gatos na propriedade?

17. Alimentacao desses animais?

- Racao Visceras de animais abatidos na propriedade
 Comida alimento caseiro
 Sobras de comida leite e farelo de milho

Ativar o Windows
Acesse Configurações para a

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, F. F. J, L. ADAMU, M. HERO, A. B. JAMAL, A. Y. OSMAN, A. W. HARON, D N. AWANG; N. ROSLIM, Parasitic Gastro-Enteritis (PGE) Concurrent with Eperythrozoonosis in a Goat: A Case Report. **Journal of Agriculture and Veterinary Science** v. 4, p. 63–66. 2013.
- AGUIRRE, D. H.; THOMPSON, C.; NEUMANN, R. D.; SALATIN, A. O.; GAIDO, A. B.; TORIONI DE ECHAIDE, S. Brote de micoplasmosis clínica por *Mycoplasma Ovis* en ovinos de Salta, Argentina. Diagnóstico clínico, microbiológico y molecular. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 41, n. 4, p. 212–214, 2009.
- ALENCAR, S.P.; MOTA, R.A.; COELHO, M.C.O.C.; NASCIMENTO, S.A.; ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, p.131-140, 2010.
- ARAGÃO H. B.; FONSECA, F., Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 59, p. 115–129. 1961.
- BIONDO, A. W.; DOS SANTOS, A. P.; GUIMARÃES, A. M. S.; VIEIRA, R. F. D. C.; VIDOTTO, O.; MACIEIRA, D. D. B.; ALMOSNY, N. R. P.; MOLENTO, M. B.; TIMENETSKY, J.; DE MORAIS, H. A.; GONZÁLEZ, F. H. D.; MESSICK, J. B. A review of the occurrence of Hemoplasmas (Hemotrophic Mycoplasmas) in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 18, n. 3, p. 1–7, 2009.
- BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M.G; BREITSCHWERDT, E. B. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. **Journal of Clinical Microbiolgy** v. 41, p. 4172–7. 2003.
- CHAPAVAL, L.; MORORÓ, A. M.; RAMOS, M. O.; VIANA, G. A. Situação Atual da Caprinocultura Leiteira no Brasil Available at: <http://www.leiteenegocios.com.br/ln/index.php?codPag=2&codCat=17&codTopico=408> [Accessed Jun 28, 2016]. 2009.
- COSTA, R. G.; ALMEIDA, C. C.; PIMENTA FILHO, E. C.; HOLANDA, E. V.; SANTOS, N. M. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região Semi-Árida do estado da Paraíba. Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 195–205, 2008.
- DADDOW, K. N. The natural occurrence in a goat of an organism resembling Eperythrozoon ovis. *Australian Veterinary Journal*, v. 55, p. 605–606, 1979a.
- DADDOW, K. N. The transmission of a sheep strain of Eperythrozoon ovis to goats and the development of a carrier state in the goats. *Australian Veterinary Journal*, v. 55, n. 12, p. 605, Dec. 1979b.
- DESHUILLERS, P. L.; SANTOS, A. P.; DO NASCIMENTO, N. C.; HAMPEL, J. A.;

BERGIN, I. L.; DYSON, M. C.; MESSICK, J. B. Complete genome sequence of *Mycoplasma ovis* strain Michigan, a hemoplasma of sheep with two distinct 16S rRNA genes. *Genome Announcements*, v. 2, n. 1, 2014.

DIECKMANN, S. M.; WINKLER, M.; GROEBEL, K.; DIECKMANN, M. P.; HOFMANN-LEHMANN, R.; HOELZLE, K.; WITTENBRINK, M. M.; HOELZLE, L. E. Haemotrophic mycoplasma infection in horses. *Veterinary Microbiology*, v. 145, n. 3-4, p. 351–353, 2010.

DOS SANTOS, A. P.; DOS SANTOS, R. P.; BIONDO, A. W.; DORA, J. M.; GOLDANI, L. Z.; DE OLIVEIRA, S. T.; DE SÁ GUIMARÃES, A. M.; TIMENETSKY, J.; DE MORAIS, H. A.; GONZÁLEZ, F. H. D.; MESSICK, J. B. Hemoplasma infection in HIV-Positive patient, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 14, n. 12, p. 1922–1924, 2008. EMBRAPA, 2014: Rebanho Caprino Rebanho Ovino. Available at: <https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Panorama+Nacional+Caprinocultura+e+Ovinocultura/39160f17-81e8-495f-837b-4233aa63832e?version=1.0>[Accessed Jun 22, 2016].

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G; JAIN, N. C.; SCHALM, O.W. **Schalm's veterinary hematology**, Lippincott Williams & Wilkins. 2000

FURLONG, J. Poder infestante de larvas de *Boophilus microplus*(acari:ixodidae) em pastagem de *Melinis minutiflora*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria mutica*. **Ciência Rural**. v. 28, p. 635–640. 1998.

GALAL, S. Biodiversity in goats. *Small Ruminant Research*, v. 60, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 75–81, 2005.

GANTER, M. Zoonotic risks from small ruminants. *Veterinary Microbiology*, v. 181, n. 1-2, p. 53–65, 2015.

GRAZZIOTIN, A. L.; DUARTE, J. M. B.; SZABÓ, M. P. J.; SANTOS, A. P.; GUIMARÃES, A. M. S.; MOHAMED, A.; VIEIRA, R. F. D. C.; DE BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; MESSICK, J. B. Prevalence and molecular characterization of *Mycoplasma ovis* in selected free-ranging brazilian deer populations. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 47, n. 4, p. 1005–11, 2011a.

GRAZZIOTIN, A. L.; DUARTE, J. M. B.; SZABÓ, M. P. J.; SANTOS, A. P.; GUIMARÃES, A. M. S.; MOHAMED, A.; VIEIRA, R. F. D. C.; DE BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; MESSICK, J. B. *Mycoplasma ovis* in captive cervids: Prevalence, molecular characterization and phylogeny. *Veterinary Microbiology* v. 152, p. 415–419, 2011b.

GRISOTTI, M. Doenças infecciosas emergentes e a emergência das doenças: Uma revisão conceitual e novas questões. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 15, p. 1095–1104, 2010.

GUIMARÃES, J. H., TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D.M.. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**, São Paulo: Plêiade. 2001

HASHEMI-FESHARRKI, R. Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. *Parassitologia*. v. 39, n2, p. 115-7, 1997.

HORNOK, S.; HAJTÓS, I.; MELI, M. L.; FARKAS, I.; GÖNCZI, E.; MEILI, T.; HOFMANN-LEHMANN, R. First molecular identification of *Mycoplasma ovis* and 'Candidatus *M. Haemoovis*' from goat, with lack of haemoplasma PCR-Positivity in lice. *Acta Veterinaria Hungarica*, v. 60, n. 3, p. 355–60, 2012.

HORNOK, S.; MELI, M. L.; ERDOS, A.; HAJTÓS, I.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Molecular characterization of two different strains of Haemotropic *Mycoplasmas* from a sheep flock with fatal haemolytic anaemia and concomitant *Anaplasma ovis* infection. *Veterinary Microbiology*, v. 136, n. 3-4, p. 372–377, 2009.

IBGE, 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Efetivos dos rebanhos. Available at: <http://www.ibge.gov.br/home/> [Accessed May 7, 2015].

IBGE. 2015 **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>[Acessado em: 12 de oct 2016]

JESSE, F.; JAZID, N.; MOHAMMED, K.; TIJJANI, A.; CHUNG, E.; ABBA, Y.; SADIQ, M.; SAHAREE, A. Hemotropic *Mycoplasma ovis* infection in goats with concurrent gastrointestinal parasitism in Malaysia. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 2, n. 4, p. 464, 2015.

LBACHA, H. A., ALALI, S.; ZOUAGUI, Z.; MAMOUN, L. E; RHALEM, A.; PETIT, E.; HADDAD, N.; GANDOIN, C.; BOULOUIS, H-J; MAILLARD, R. High Prevalence of *Anaplasma* spp. in Small Ruminants in Morocco. **Transboundary Emerging Diseases**. 2015.

LOPES, F. B.; DA SILVA, M. C.; MIYAGI, E. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; FACÓ, O.; GUIMARÃES, R. F.; JÚNIOR, O. A. de C.; MCMANUS, C. M. Spatialization of climate, physical and socioeconomic factors that affect the dairy goat production in Brazil and their impact on animal breeding decisions. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1073–1081, 2012.

MAGGI, R. G.; COMPTON, S. M.; TRULL, C. L.; MASCARELLI, P. E.; MOZAYENI, B. R.; BREITSCHWERDT, E. B. Infection with Hemotropic *Mycoplasma* species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 10, p. 3237–3241, 2013.

MARTINS, J.R.; RECK JR, J.; DOYLE,; DA CRUZ, N. L. N.; VIEIRA, A. W. DE M.; SOUZA, U. A. *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae) parasitizing margay (*Leopardus wiedii*) in Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 19, p. 189–191. 2010.

MASON, R. W.; CORBOULD, A.; STATHAM, P. A serological survey of *Eperythrozoon ovis* in goats and sheep in Tasmania. **Australian Veterinary Journal**, v. 66, n. 4, p. 122–3, 1989a.

MASON, R. W.; CORBOULD, A.; STATHAM, P. Experimental *Eperythrozoon ovis* infection in goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 66, n. 7, p. 221–2, Jul. 1989b.

MEICHNER, K.; QUROLLO, B. A; ANDERSON, K. L; GRINDEM, C. B.; SAVAGE, M;

BREITSCHWERDT, E.B. Naturally Occurring Ehrlichia ewingii and Mycoplasma sp. Co-Infection in a Goat. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 29, p. 1735–1738. 2015

MESSICK, J. B. Hemotrophic Mycoplasmas (Hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology**, v. 33, n. 1, p. 2–13, 2004.

MESSICK, J. B.; BERENT, L. M.; COOPER, S. K. Development and evaluation of a PCR-based assay for detection of *Haemobartonella felis* in cats and differentiation of *H. felis* from related bacteria by restriction fragment length polymorphism analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 462–466, 1998.

MILLAN, J.; LOPEZ-ROIG, M.; DELICADO, V. V.; SERRA-COBO, J.; ESPERON, F. Widespread infection with Hemotropic Mycoplasmas in bats in Spain, including a hemoplasma closely related to 'Candidatus Mycoplasma Hemohominis'. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 39, p. 9–12, Jan. 2015.

NEIMARK, H.; HOFF, B.; GANTER, M. *Mycoplasma ovis* comb. nov. (Formerly *Eperythrozoon ovis*), an Eperythrocytic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 365–371, 2004.

NEIMARK, H.; JOHANSSON, K. E.; RIKIHISA, Y.; TULLY, J. G. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of 'Candidatus Mycoplasma Haemofelis', 'Candidatus Mycoplasma Haemomuris', 'Candidatus Mycoplasma Haemosuis' and 'Candidatus Mycoplasma wenyoni'. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 891–899, 2001.

NEIMARK, H.; JOHANSSON, K. E.; RIKIHISA, Y.; TULLY, J. G. Revision of haemotrophic mycoplasma species names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 683, 2002.

ONOFRIO, V.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F. G.; BARROS-BATTESTI, D. M. Comentário e chaves para espécies do gênero *Amblyomma*. In Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para a identificação de espécies. São Paulo: ICTTD-3/Instituto Butantan, pp. 53–113. 2006

PAUL, S.; AGGER, J. F.; AGERHOLMA, J. S. Markussen Prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* seropositivity in Danish beef and dairy cattle at slaughter adjusted for test uncertainty. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 113, p. 504-11, 2014.

REAGAN, K. L.; CLARKE, L. L.; HAWLEY, J. R.; LIN, P.; LAPPIN, M. R. Assessment of the ability of aedes species mosquitoes to transmit feline *Mycoplasma Haemofelis* and 'Candidatus Mycoplasma Haemominutum'. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1–5, 2016.

RJEIBI, M. R.; DARGHOUTH, M. A.; OMRI, H.; SOUIDI, K.; REKIK, M.; GHARBI, M.

First molecular isolation of *Mycoplasma ovis* from small ruminants in North Africa. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 82, n. 1, p. 912, 2015.

SONG, W., SONG, Q.; HE, L.; ZHOU, Y.; ZHAO, J. The establishment and application of a semi-nested PCR assay for the detection of *Mycoplasma ovis*. *Small Ruminant Research* v. 119, p. 176–181. 2014

SYKES, J. E.; LINDSAY, L. L.; MAGGI, R. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 10, p. 3782–3785, 2010.

TANAKA, H.; HALL, W. T.; SHEFFIELD, J. B.; MOORE, D. H. Fine structure of *Haemobartonella muris* as compared with *Eperythrozoon coccoides* and *Mycoplasma pulmonis*. **Journal of Bacteriology**, v. 90, n. 6, p. 1735–1749, 1965.

THRUSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**, London: Blackwell Science Ltd. 1995.

VIEIRA, R. F. C.; MOLENTO, M. B.; DOS SANTOS, L. C.; MORAES, W.; CUBAS, Z. S.; SANTOS, A. P.; GUIMARAES, A. M. S.; MOHAMED, A.; BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; MESSICK, J. B. Detection of a novel hemoplasma based on 16S rRNA gene DNA in captive and free-ranging capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Veterinary Microbiology**, v. 139, n. 3-4, p. 410–413, 2009.

VIEIRA, T. S. J. W.; VALENTE, J. D. M.; SILVA, N. B.; SICUPIRA, P. M. L.; BARROS-FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; VIEIRA, R. F. da C.; VIDOTTO, O. Comparative study of two serological tests for detection of anti-*Theileria equi* antibodies in horses estudo comparativo de dois testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-*Theileria equi* em equinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 4361–4364, 2015.

YUAN, C. L.; LIANG, A. B.; YAO, C. B.; YANG, Z. B.; ZHU, J.G.; CUI, L.; YU, F.; ZHU, N. Y.; YANG, X. W.; HUA, X. G. Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. **America Journal of Veterinary Research**. v. 70, p. 890-4, 2009.