

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**OCORRÊNCIA DE *Neospora Caninum*, *Toxoplasma Gondii* E *Leptospira spp*
EM BOVINOS DA REGIÃO DA BAIXADA MARANHENSE- MA, BRASIL**

Ylisieux Yohannah de Jesus Avelar

São Luís-MA

2011

YLISIEUX YOHANNAH DE JESUS AVELAR

**OCORRÊNCIA DE *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* E *Leptospira spp*
EM BOVINOS DA REGIÃO DA BAIXADA MARANHENSE- MA, BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito
Parcial para obtenção do grau de Mestre
em Ciência Animal.

Área: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

Co-orientador: Profa. Dra. Maria Inez Santos Silva

São Luís
2011

Avelar, Ylisieux Yohannah de Jesus.

Ocorrência de *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em bovinos da região da Baixada Maranhense-MA, Brasil / Ylisieux Yohannah de Jesus Avelar.– São Luís, 2011.

78 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

1. Ocorrência. 2. Fatores de risco. 3. Bovinos. 4. RIFI. 5. SAM. I.Título

CDU: 636.2:616.993(812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em/...../..... pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Rudson Almeida Oliveira
1º Membro

Profa. Dra. Maria Inez Santos Silva
2º Membro

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo
Orientador

Aos maiores incentivadores deste trabalho: meus pais Avel e Yeth

“Tudo posso Naquele que me fortalece” .
(Filipenses 4:13)

"Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende".
(Guimarães Rosa)

“Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes. Assim em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive” .

(Fernando Pessoa)

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus e a Nosso Senhor Jesus Cristo por tudo o que Eles me proporcionam a cada minuto da minha vida. Por estarem sempre comigo, me dando forças na minha caminhada e por serem minha razão de existir. Tudo o que eu consegui realizar até hoje, eu devo a Eles.

Aos meus pais Avel e Yeth por serem maravilhosos, por me apoiarem em todas as minhas decisões, pelo amor incondicional, por serem meus amigos e por terem sido meus maiores incentivadores em todos os meus projetos.

Às minhas irmãs lindas Yandjara e Yudmilla, por serem minhas parceiras em todas as horas, por todo o companheirismo, e pela grande ajuda e força que elas me deram em todos os momentos da minha vida.

À minha sobrinha e afilhada Sophia, a quem eu tanto amo e por ser a minha maior alegria.

Aos cunhados Flávio pela ajuda na formatação e por quebrar meu galho várias vezes sempre que eu precisei e Washington pela ótima convivência todos os dias.

À minha querida professora e amiga Profa Dra Maria Inez Santos Silva, pelos ensinamentos, incentivos e por tudo o que ela fez por mim. Alguém que se tornou parte da minha família.

Ao meu orientador Prof. Dr Ferdinan Almeida Melo, pela amizade, por ser essa pessoa maravilhosa e que apesar da pouca convivência que tivemos, demonstrou muito interesse em me ajudar.

Aos amigos da minha turma do mestrado, pela convivência harmônica e divertida que foram esses dois anos e por terem sido muito importantes nesta etapa da minha vida. Em especial à Lucélia.

Aos amigos da graduação que muito contribuíram para este trabalho, me ajudando nas coletas, no processamento das amostras, e pelo cuidado que tinham com os materiais e sempre que eu precisava sabia que podia contar com eles: Rafael, Kássia, Priscilla, Venir, Gabriel, Arlene, Daniel Fernando, Wallington e Cadu. Vocês me ajudaram muito.

Ao amigo Francisco Borges, pela valiosa ajuda nas análises estatísticas.

À Médica Veterinária Sonizethe Santana, por ter disponibilizado as amostras. Sem ela esse trabalho não poderia ter sido concluído. Você salvou minha pesquisa. Muito obrigada! Serei eternamente grata.

Ao Médico Veterinário e grande amigo Paulo Ricardo de Sá da Costa Leite, pela nossa amizade e por ele torcer muito por mim.

Ao Sr. Ricardo pela disponibilidade nas viagens e grande ajuda nos momentos das coletas.

Aos meus tios queridos Dico e Miriam e ao meu primo Kelvin pelo amor e carinho com que me receberam em sua casa e por todos os momentos agradabilíssimos que tivemos.

À minha tia Eleonora, tio Zé Maria, Leo e Maria Júlia, por terem me hospedado em sua casa e me recebido com muito carinho.

Ao meu avô Martinho, que torce muito pelo meu sucesso e que apesar de estar doente, não se deixa abater em nenhum momento e demonstra todos os dias que com a fé e o pensamento positivo nós podemos tudo.

À professora Dra Solange Gennari pela grandiosa oportunidade de estágio no Laboratório de Doenças Parasitárias do VSP/USP e à Dra Hilda Pena (técnica do laboratório) pela disponibilidade em ensinar as técnicas de RIFI. Ao querido Renatinho pela recepção, carinho e ajuda no laboratório.

À Zenaide Maria de Moraes e Gisele Oliveira de Souza pela ajuda nos exames da leptospirose e pelo enorme carinho com que me receberam e a dedicação com que realizaram os exames.

Ao Professor Dr. Ricardo da bioestatística do VPS/USP pela ajuda nas análises estatísticas.

Às amigas e estagiárias do VPS, Camylla, Carol e Ana pela enorme ajuda no momento de fazer a RIFI e pela amizade que surgiu desse estágio.

Aos pós graduandos do VPS Aline e Herbert, por tirarem minhas dúvidas, e me ajudarem na hora da leitura das lâminas.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação da Uema pelos ensinamentos que cada um nos proporcionou.

Aos funcionários o Curso de Medicina Veterinária.

A todos os que contribuíram de forma direta ou indireta para este trabalho.

A todos os proprietários que cederam seus animais para a colheita das amostras e pelo tratamento que recebemos, durante as viagens.

À Universidade Estadual do Maranhão pela minha formação profissional.

À CAPES e FAPEMA pelo apoio financeiro.

AVELAR, Y. Y. J. **Ocorrência de *Neospora Caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp* em bovinos da região da Baixada Maranhense- MA, Brasil.**

[Occurrence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Leptospira spp* in the region's cattle in the Baixada Maranhense-MA, BRAZIL]. 2011. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2011.

RESUMO

A neosporose, a toxoplasmose e a leptospirose são doenças de considerável importância para a produção animal, por serem responsáveis por abortamentos, doenças congênitas em várias espécies, além de causarem grandes prejuízos econômicos. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp.* em soros de bovinos na região da Baixada Maranhense-MA, analisando-se as possíveis associações entre os três agentes e as diferenças das frequências entre sexo, idade e raça, identificando-se a possibilidade de ocorrência de fatores de risco relacionados às infecções por *N. caninum*, *T. gondii* e *Leptospira spp.* Foram colhidas 280 amostras de bovinos em cinco municípios da região da Baixada Maranhense –MA (Arari, Cajari, Viana, Pinheiro e Vitória do Mearim) que foram testadas pela reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando-se ponto de corte de 1:100 para *N.caninum* e 1:64 para *T. gondii* e Soroaglutinação Modificada (SAM) para *Leptospira spp.* Para *N. caninum*, estimaram-se 20,00% (56/280) de soropositividade com frequências de 4,20% (2/46) em Vitória do Mearim, 19,20% (10/52) em Pinheiro, 7,40% (5/68) em Arari, 41,60% (32/77) em Cajari e 20,00% (7/35) em Viana. Para *T. gondii*, houve 3,60% de amostras reagentes com frequências de 4,20 % (2/48) em Vitória do Mearim, 1,90% (1/52) em Pinheiro; 3,90% (3/77) em Cajari e 11,40% (4/35) em Viana, e nenhum animal positivo em Arari das 68 amostras. A porcentagem para *Leptospira spp* foi de 41,90%, sendo que o sorovar *Wolffi* foi o mais frequente (37,90%), seguido por *Hardjo (Hardjobovis)* com 25,90%, e *Pomona* (12,90%). As frequências encontradas nos municípios foram 2,9% (2/68) em Arari, 6,50% (5/77) em Cajari, 73,10% (38/52) em Pinheiro, 71,40% (25/35) em Viana e 95,80% (46/48) em Vitória do Mearim. Os fatores associados à infecção causada pelo *N. caninum* foram: raça, idade e presença de outras espécies. Para o *T. gondii* foram associados à infecção sexo, idade, presença de outras espécies, histórico de abortamento, tipo de exploração, uso de inseminação artificial e aluguel de pasto. As variáveis sexo, idade, presença de outras espécies, histórico de abortamento, compra de machos e fêmeas, uso de inseminação artificial e assistência veterinária foram fatores de risco para *Leptospira spp.*

Palavras-chave: Frequência, fatores de risco, bovinos, RIFI, SAM.

AVELAR, Y. Y. J. **Occurrence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Leptospira spp* in the region's cattle in the Baixada Maranhense-MA, BRAZIL** [Ocorrência de *Neospora Caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp* em bovinos da região da Baixada Maranhense- Ma, Brasil]. 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2011.

ABSTRACT

The neosporosis, toxoplasmosis and leptospirosis are diseases of considerable importance for animal production, being responsible for abortions, congenital diseases in several species, besides causing great economic losses. The main objective of this study was to evaluate the occurrence of *N. caninum*, *T. gondii* and *Leptospira spp* in cattle sera in the region of Maranhão State-MA, analyzing the possible associations between the three agents and differences in the frequency of sex, age and race, identifying the possibility of risk factors to infection by *N. caninum*, *T. gondii* and *Leptospira spp*. We collected 280 samples from cattle in five municipalities in the region of Maranhão State-MA (Arari Cajari, Viana Pinheiro and Vitória do Mearim) that were tested by Indirect Fluorescent Antibody (IFA), using a cutoff of 1: 100 and 1:64 for *N.caninum*, *T. gondii* and Modified Agglutination Test (MAT) for *Leptospira spp*. For *N. caninum*, estimated to be 20,0% (56/280) seropositivity with frequency of 2,00% (2 / 46) in Vitória do Mearim, 19.20% (10/52) in Pinheiro, 7.40% (5 / 68) in Arari, 41.60% (32/77) in Cajari and 20.00% (7 / 35) in Viana. *T. gondii* was 3.60% of reactive samples with frequencies of 4.20% (2 / 48) in Vitória do Mearim, 1.90% (1 / 52) Pinheiro, 3.90% (3 / 77) in Cajari and 11.40% (4 / 35) in Viana, and none of the 68 positive samples Arari. The percentage for *Leptospira spp* was 41.90%, and serovar *Wolffi* was the most frequent (37.90%), followed by *Hardjo* (*hardjobovis*) with 25.90%, and *Pomona* (12.90%). The frequencies found in the counties were 2.90% (2 / 68) in Arari, 6.50% (5 / 77) in Cajari, 73.10% (38/52) in Pinheiro, 71.40% (25/35) in Viana and 95.80% (46/48) in Vitória do Mearim. Factors associated with infection caused by *N. caninum* were race, age and presence of other species. For *T. gondii* infection was associated with sex, age, presence of other species, history of abortion, type of farming, use of artificial insemination and pasture rental. Gender, age, presence of other species, history of abortion, purchase of males and females, use of artificial insemination and veterinary care were risk factors for *Leptospira spp*.

Key Words: frequency, risk factors, cattle, IFA, MAT.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Geral	18
2.2 Específicos	18
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1 <i>Neospora caninum</i>	19
3.2 <i>Toxoplasma gondii</i>	25
3.3 <i>Leptospira spp.</i>	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Caracterização da área de estudo	35
4.2 Amostragem	36
4.3 Coleta do material.....	36
4.4 Exames sorológicos	37
4.4.1 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para <i>Neospora caninum</i>	37
4.4.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para <i>Toxoplasma gondii</i>	38
4.4.3 Sorodiagnóstico da Leptospirose através da Soroaglutinação Microscópica (SAM) com antígenos vivos.....	38
4.5 Análise estatística.....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Frequência de anticorpos contra <i>Neospora caninum</i>	42
5.2 Frequência de anticorpos contra <i>Toxoplasma gondii</i>	48
5.3 Frequência de animais sororreagentes para <i>Leptospira spp.</i>	53
5.4 Comparação entre a frequência de anticorpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Leptospira spp.</i>	58
5.4.1 Comparação entre a frequência de anticorpos contra <i>Neospora caninum</i> e <i>Leptospira spp.</i>	59
5.4.2 Comparação entre a frequência de anticorpos contra <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i>	59
6 CONCLUSÕES.....	61
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
REFERÊNCIAS.....	63
APÊNDICE.....	78

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1: Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em bovinos da região da Baixada Maranhense-MA.....	43
TABELA 2: Distribuição dos títulos de anticorpos contra <i>N. caninum</i> (RIFI) em bovinos da Baixada Maranhense-MA	44
TABELA 3: Distribuição da frequência das variáveis sexo, raça e idade de anticorpos contra <i>N.caninum</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	45
TABELA 4: Distribuição da frequência das variáveis presença de animais na propriedade, histórico de abortamento, áreas alagadiças, compra de fêmeas ou machos, para anticorpos contra <i>N.caninum</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	47
TABELA 5: Distribuição da frequência das variáveis tipo de exploração, uso de IA, aluga pastos, assistência veterinária, para anticorpos contra <i>N.caninum</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA	48
TABELA 6: Frequência de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em bovinos da região da Baixada Maranhense-MA.....	49
TABELA 7: Distribuição dos títulos de anticorpos contra <i>T. gondii</i> (RIFI) em bovinos da Baixada Maranhense-MA	50
TABELA 8: Distribuição da frequência das variáveis sexo, raça e idade de anticorpos contra <i>T. gondii</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	50
TABELA 9: Distribuição da frequência das variáveis presença de animais na propriedade, histórico de abortamento, áreas alagadiças, compra de fêmeas ou machos, para anticorpos contra <i>T. gondii</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	51
TABELA 10: Distribuição da frequência das variáveis tipo de exploração, uso de IA, aluga pastos, assistência veterinária para anticorpos contra <i>T. gondii</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA	52
TABELA 11: Frequência de animais positivos para <i>Leptospira spp</i> por município em bovinos da região da Baixada Maranhense-MA.....	53
TABELA 12: Distribuição da frequência das variáveis sexo, raça e idade para <i>Leptospira spp.</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA	56

TABELA 13: Distribuição da frequência das variáveis presença de animais na propriedade, histórico de abortamento, áreas alagadiças, compra de fêmeas ou machos, para <i>Leptospira spp</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	.57
TABELA 14: Distribuição da frequência das variáveis tipo de exploração, uso de IA, aluga pastos, assistência veterinária para <i>Leptospira spp</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	.57
TABELA 15: Comparação entre a frequência de anticorpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Leptospira spp</i>58
TABELA 16: Comparação entre a frequência de anticorpos contra <i>Neospora caninum</i> e <i>Leptospira spp</i>59
TABELA 17: Comparação entre a frequência de anticorpos contra <i>Neospora caninum</i> e <i>T. gondii</i> em bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	.60

LISTA DE QUADRO

Página

QUADRO 1: Antígenos empregados na microtécnica de Soroaglutinação Microscópica aplicada a leptospirose, segundo código de identificação do laboratório, sorogrupo, sorovar e estirpe- São Paulo-2008.....	40
--	----

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1: Ciclo de transmissão doméstico e silvestre do <i>N. caninum</i>	20
FIGURA 2: Ciclo de transmissão do <i>T. gondii</i>	26
FIGURA 3: Ciclo de transmissão do <i>Leptospira spp.</i>	32
FIGURA 4: (1) amostra reagente (2) amostra não reagente anticorpos anti – <i>N. caninum</i> pela RIFI	37
FIGURA 5: Frequência de animais reagentes aos sorovares de <i>Leptospira spp.</i> no teste de SAM em soros de bovinos da Baixada Maranhense-MA.....	54

1. INTRODUÇÃO

O rebanho bovino no Brasil possui aproximadamente 205,2 milhões de cabeças, representando o maior rebanho da América Latina e o segundo do mundo (IBGE, 2009) Entretanto, em termos de produção, a pecuária brasileira ainda não possui níveis competitivos em relação aos países desenvolvidos (PELLEGRIN et al.,1999).

Desta forma, para que um rebanho tenha um bom desempenho reprodutivo, faz-se necessário a participação de vários fatores para o sucesso na produção. Contudo, são muitas as condições que interferem em sua eficiência reprodutiva, destacando-se as causas alimentares e infecciosas (FERREIRA, 1991). Com todos os esforços e avanços da ciência, ainda existem muitas enfermidades que causam queda na produção e ainda não têm um controle adequado.

Os problemas de origem reprodutiva representam uma preocupação constante para os profissionais de saúde animal, pois são complexos e apresentam várias causas, inclusive aquelas relacionadas a processos infecciosos zoonóticos (OLIVEIRA, 1999). Dentre elas, incluem-se a neosporose, a toxoplasmose, e a leptospirose. .

A neosporose bovina é uma doença parasitária causada por um protozoário, o *Neospora caninum*, que se constitui numa das causas mais importantes de aborto em vários países (MOORE, 2005). O parasito possui distribuição mundial e acomete, sobretudo, o rebanho bovino leiteiro, mas também é encontrado em bovinos de corte (THURMOND & HIETALA, 1997).

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial que acomete o homem e outras espécies animais, tanto de produção quanto de companhia, domésticos e silvestres, sendo causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. Os felídeos, principalmente os gatos, desempenham papel fundamental na transmissão do parasito para o homem e outros animais, pois são os únicos hospedeiros que eliminam os oocistos pelas fezes. Os oocistos são resistentes

às condições ambientais e resultam da fase sexuada do ciclo, que é limitada ao epitélio intestinal desses animais (DUBEY, 1993).

A leptospirose, por sua vez, é uma doença encontrada em várias partes do mundo, causada por diversas sorovariedades de *Leptospira interrogans*, pertencentes à família dos *Spirochetaceae*, que infectam praticamente todas as espécies, inclusive o homem (NOGUCHI, 1918).

Considerando-se a importância que as enfermidades reprodutivas causam em bovinos, ocasionando impactos econômicos e diminuição na produtividade, além de representarem um risco em potencial à saúde animal e humana, realizou-se a pesquisa sobre a ocorrência de *N. caninum*, *T. gondii* e *Leptospira spp* em soros de bovinos da região da Baixada Maranhense - MA, verificando-se as possíveis diferenças da frequência entre sexo, raça e idade dos animais estudados, identificando-se os possíveis fatores de risco associados às infecções por *N. caninum*, *T. gondii* e *Leptospira spp*.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Registrar a frequência de *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp.* em bovinos da região da Baixada Maranhense-MA.

2.2 Específicos

Estimar a frequência de bovinos soropositivos contra *N. caninum*, *Leptospira spp* e *Toxoplasma gondii* nos municípios da Baixada Maranhense;

Avaliar a possível associação entre as frequências de animais soropositivos para *N. caninum*, *T. gondii* e *Leptospira spp.*

Estudar os fatores de risco associados à infecção por N. caninum, T. gondii e Leptospira spp.

3.REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Neospora caninum*

Em 1984, foi descoberto na Noruega em uma ninhada de filhotes de cães da raça boxer, um protozoário que desenvolvia sintomatologia neurológica semelhante àquela causada pelo *Toxoplasma gondii*, entretanto, esses animais não apresentavam anticorpos contra o *T. gondii*. (BJERKÅS et al.,1984) Somente em 1988, que um protozoário com características similares foi isolado em cães nos EUA, que apresentavam alterações neurológicas , e identificado como um novo parasito, classificado como *Neospora caninum*, coccídio da classe *Sporozoa* e pertencente à família *Sarcocystidae*, a mesma do *T. gondii*, mas diferente estruturalmente (DUBEY et al., 1988 a).

Em 1988, foi verificado que esse agente causava uma forma clínica mais severa do que o *Toxoplasma gondii*, constatando-se diferenças estruturais e histopatológicas entre ambos. O exame de amostras tissulares armazenadas revelou que já acometia cães com sinais neurológicos desde a década de 50 (DUBEY et al., 1990).

Os cães foram considerados hospedeiros definitivos do *N. caninum* (McALLISTER et al., 1998) após terem se passado dez anos desde a sua classificação e isolamento. A única forma de transmissão conhecida até então era a vertical (COLLERY, 1996).

O ciclo de vida do parasito é tipificado por três estágios infectantes: taquizoítos, cistos teciduais e oocistos (DUBEY, 2003).

O *N. caninum* pode ser transmitido transplacentalmente em diversos hospedeiros, sendo a via vertical a mais importante em rebanhos bovinos. Os carnívoros podem adquirir a infecção pela ingestão de tecidos infectados (McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999 a, 1999 b; DIJKSTRA et al., 2001; SCHARES et al., 2000; GONDIM et al., 2002).

Os carnívoros provavelmente se infectam após ingerirem tecidos contendo bradizoítos, enquanto os herbívoros, através da ingestão de alimentos ou água contaminados por oocistos esporulados de *N. caninum* (DUBEY, 1999; ANDERSON et al., 2000; DIJKSTRA et al., 2001a), pela ingestão de placentas infectadas e músculo de bovinos (DIJKSTRA et al., 2001a), ou ainda, podem ser infectados verticalmente durante a vida intra-uterina (DUBEY & LINDSAY, 1996).

Devido à sua estreita relação com o *T. gondii*, provavelmente a resistência ambiental dos oocistos de *N. caninum* é semelhante a dos oocistos de *T. gondii* (DUBEY et al., 2006).

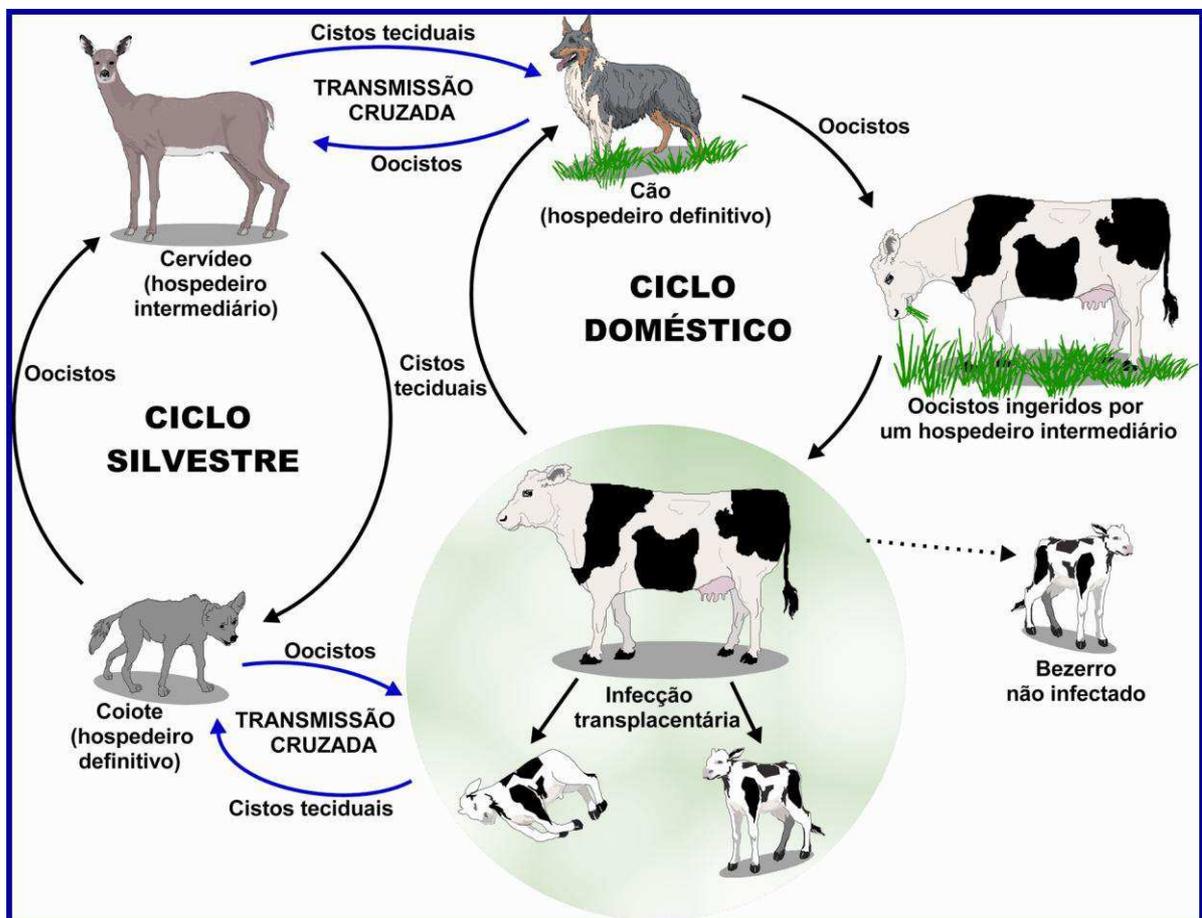


FIGURA1: Ciclo de transmissão doméstico e silvestre do *N. caninum* (GONDIM et al., 2004)

O hospedeiro intermediário ingere o oocisto esporulado, ocorre então a liberação dos esporozoítos na luz intestinal, por onde as células penetram e

passam a se chamar taquizoítos, que são ovóides, lunares ou globulares, dependendo do estágio de divisão, medindo 2 x 6µm. Os taquizoítos se dividem rapidamente, podendo penetrar em diversas células do hospedeiro (macrófagos, polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos, células tubulares renais e hepatócitos) causando graves lesões em diferentes órgãos. Alguns se transformam em bradizoítos, dentro de cistos de parede espessa, permanecendo latentes, em lenta divisão (LINDSAY,1999). Os cistos são ovais ou circulares, com mais de 107 µm de diâmetro, encontrados, sobretudo no SNC, inclusive na retina.

Os taquizoítos e cistos teciduais são encontrados no hospedeiro intermediário e localizam-se no interior da célula (DUBEY et al., 2002). Cistos teciduais foram encontrados no músculo de bovinos e cães naturalmente infectados por *N.caninum* (PETERS et al., 2001).

A ingestão oral de cistos que contêm bradizoítos por hospedeiros carnívoros promove diferenciação sexual do parasito nos tecidos intestinais, com formação de oocistos que são excretados nas fezes (McALLISTER et al.,1998).

A infecção é mais frequente em cães de áreas rurais (SAWADA et al., 1998; WOUUDA et al., 1999). Isto se deve ao fato de animais, nessas áreas, terem maior facilidade de contato com carne e vísceras infectadas, enquanto os cães domiciliados, criados em áreas urbanas, atualmente são alimentados principalmente com rações comerciais. Entretanto, a frequência da infecção em cães é variável.

O primeiro relato no mundo de ocorrência de abortamento em bovinos leiteiro relacionado ao *N. caninum* foi em 1989, no Novo México, EUA, após detectarem a presença do parasito associado às lesões teciduais em fetos abortados (THILSTED & DUBEY, 1989).

Dois anos após esse relato, a neosporose já era relacionada à abortamentos em bovinos de leite em toda a Califórnia, EUA (ANDERSON et al., 1991).

Vários casos de neosporose foram diagnosticados em diferentes partes do mundo, acometendo principalmente bovinos de leite. Os taquizoítos foram encontrados em diferentes tecidos de animais, enquanto os cistos teciduais só foram identificados no sistema nervoso central desses animais (DUBEY & LINDSAY, 1993).

No Brasil, os prejuízos causados por *N. caninum* ainda não foram estimados, entretanto, a neosporose é sabidamente uma importante causa de abortamento em bovinos no país (CORBELLINI et al. 2002, PESCADOR et al. 2007). A frequência de relatos de ocorrência de anticorpos contra *N. caninum* varia de 7,60% a 67,80% em soros de rebanhos bovinos de leite e de corte. Embora o *N. caninum* apresente ampla distribuição em muitas regiões geográficas do Brasil, pouco se conhece sobre a condição epidemiológica da infecção (TEIXEIRA et al., 2010).

A detecção de anticorpos para *N. caninum* vem sendo descrita no Brasil em bovinos leiteiros e de corte em vários estados: Bahia (GONDIM et al. 1999), Maranhão (TEIXEIRA et al. 2005), Mato Grosso do Sul (ANDREOTTI et al. 2004), Minas Gerais (COSTA et al. 2001; RAGOZO et al. 2003), Pernambuco (SILVA et al. 2002), Paraná (RAGOZO et al. 2003, GUIMARÃES JÚNIOR et al. 2004; OGAWA et al. 2005), Rio de Janeiro (RAGOZO et al. 2003), Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al. 2002, VOGEL et al. 2006), Rondônia (AGUIAR et al. 2006), Santa Catarina (CORBELLINI et al. 2001) e São Paulo (STOBBE 1999; BELO et al. 1999, COSTA et al. 2001; SARTOR et al. 2003; RAGOZO et al. 2003; CASSOL et al. 2005).

Além de infectar bovinos e caninos, a neosporose também foi diagnosticada em caprinos (BARR et al., 1992), ovinos (DUBEY et al., 1990), equinos (DUBEY & PORTERFIELD, 1990) e cervídeos (WOODS et al., 1994).

Entretanto, os bovinos parecem ser a espécie mais suscetível à infecção (DUBEY & LINDSAY, 1996).

A primeira sorologia para pesquisa de anticorpos contra *N. caninum* em bovinos realizada no mundo foi preconizada por Conrad et al. (1993). O ponto discriminativo (“cut-off”) indicativo de infecção em bovinos ainda não foi totalmente padronizado, porém em revisão, foi considerado como específico o ponto discriminativo de 200 (DUBEY & LINDSAY, 1996).

Além da RIFI, testes de imunoadsorção enzimática (ELISA) também foram desenvolvidos para detectar anticorpos contra *N. caninum* (BJÖRKMAN et al., 1994; PARÉ et al., 1995 ; BASZLER et al., 1996; DUBEY et al., 1996; LALLY et al., 1996; BJÖRKMAN et al., 1997; OSAWA et al., 1998).

Algumas técnicas, como reações de polimerase em cadeia (PCR) foram desenvolvidas para detectar DNA de *N. caninum* nos tecidos de animais infectados (ELLIS, 1998).

Técnicas modificadas de aglutinação, semelhantes às empregadas para detecção de anticorpos contra *T. gondii* também foram registradas para pesquisar anticorpos contra *N. caninum* com vantagem do conjugado utilizado não ser espécie-específico (ROMAND et al., 1998; PACKHAM et al., 1998).

O *N. caninum* causa abortos tanto em rebanho leiteiro, quanto em rebanho de corte (DUBEY & LINDSAY, 1996). Vacas com qualquer idade podem abortar a partir do terceiro mês de gestação até o término. O feto pode morrer no útero, ser mumificado, autolizado, nascer morto, nascer clinicamente normal, mas cronicamente infectado (DUBEY, 2003). Até 95% dos bezerros nascidos congenitamente infectados de fêmeas soropositivas permanecem clinicamente normais (DIJKSTRA, 2002).

A infecção por *N. caninum* não causa sinais clínicos em vacas, a não ser pelos abortos encontrados. Animais de qualquer idade e a qualquer momento da gestação podem abortar, tanto gado de leite quanto gado de corte (PATITUCCI et al., 1999).

Bezerros infectados com *N. caninum* podem ter sinais neurológicos, emagrecimento, incapacidade de se levantarem, ou nascerem sem os sinais clínicos da doença (DUBEY, 2003).

Para controlar a doença, o primeiro passo é conhecer o grau de infecção do rebanho através de exames sorológicos. A partir desta premissa, deve-se tentar diminuir gradativamente o número de animais soropositivos na propriedade, incluindo o descarte e evitando manter bezerros filhos de vacas infectadas no rebanho. Deve-se eliminar todo e qualquer material proveniente de aborto, impedindo que este seja ingerido por um suposto hospedeiro definitivo do parasito e proteger os alimentos dos bovinos de fezes de animais carnívoros (THURMOND & HIETALA, 1997).

Além disso, os bovinos mortos, de qualquer idade, devem ser removidos ou queimados antes que os carnívoros tenham acesso às carcaças. Os cães devem ser alimentados com rações ou, quando ingerirem carne ou vísceras, estas sempre devem ser cozidas, deve ser controlada a população de cães errantes (DUBEY et al., 2006).

Tem sido proposto, também, conscientizar a população a controlar os cães dentro e ao redor das fazendas, com medidas como esterilizar todos aqueles animais que não sejam desejados para a reprodução e solicitar aos vizinhos que prendam seus cães ou os esterilizem. E ainda, se for o caso, deve-se contactar as autoridades locais a respeito de programas de castração dos cães (McALLISTER et al., 2005).

3.2 *Toxoplasma gondii*

A toxoplasmose é uma das zoonoses de maior disseminação (CLEMENTINO et al., 2007) e afeta aproximadamente dois milhões de pessoas em todo o mundo (LINDSTRÖM et al., 2006). Sua importância está relacionada ao fato dos animais infectados servirem de fonte direta ou indireta de infecção ao homem e pelos danos que a doença provoca em animais de interesse econômico e de estimação (COSTA, 1980).

O *T. gondii* é um parasito intracelular obrigatório (RORMAN, et al., 2006) que pertence ao filo *Apicomplexa*, ordem *Coccidia*, que acomete humanos e vários hospedeiros vertebrados. A denominação do gênero *Toxoplasma* teve origem devido à sua forma de meia lua (do grego *táxon*= arco) e *gondii* em referência ao roedor *Ctenodactylus gondii* (GARCIA, et al., 2006; SHARIF, et al., 2007).

T. gondii foi descrito pela primeira vez por Splendore em 1908 em São Paulo, Brasil em coelhos de laboratório, simultaneamente Nicolle & Manceaux (1908) também o encontraram no cérebro de um roedor selvagem (*Ctenodactylus gondii*) na Tunísia.

A denominação do gênero *Toxoplasma* teve origem devido à sua forma de meia lua (do grego *táxon*= arco) e *gondii* em referência ao roedor *Ctenodactylus gondii*.

O *T. gondii* foi pela primeira vez isolado em tecidos bovinos por Sanger et al. (1953) que identificaram a presença de formas do parasito

Dubey (1983), em trabalho experimental com bezerros e vacas prenhes, concluiu que *T. gondii* pode permanecer viável nos tecidos dos bovinos até a idade de abate destes animais. Em cães, a infecção foi descrita pela primeira vez por Mello (1910) em Turin na Itália, no ano seguinte a infecção foi descrita no Brasil por Carini (1911).

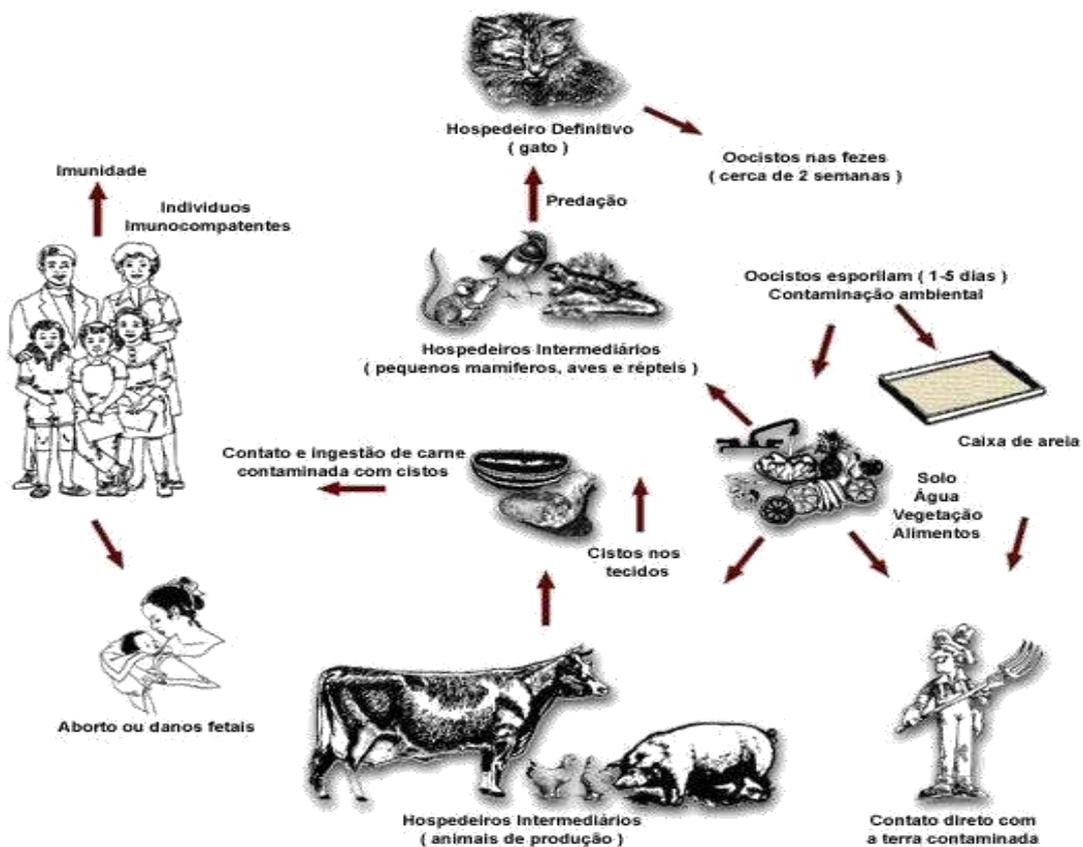


FIGURA 2: Ciclo de transmissão do *T. gondii*

Fonte: Nova Arka, 2008

O gato doméstico é considerado o hospedeiro definitivo da infecção (HUTCHISON, 1965; FARIA et al., 2007).

O *T. gondii* parasita normalmente o hospedeiro sem causar nenhum sinal clínico, porém forma cistos latentes que permanecerão durante toda a vida do indivíduo. As principais preocupações clínicas da toxoplasmose são (1) infecção primária durante a gestação, que pode resultar em infecção do feto, ocasionando quadros neurológicos e oculares em crianças, tais como retardo mental e cegueira, abortamento e mortalidade neonatal em suínos, ovinos e caprinos; (2) reativação de infecções latentes em indivíduos imunossuprimidos (DUBEY & BEATTIE, 1988; LÜDER et al., 1998; TENTER et al., 2000).

O *T. gondii* apresenta três formas infectantes no seu ciclo evolutivo, representados pelos taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (MILLER et al., 1972). Os taquizoítos podem aparecer agrupados ou individualmente e possuem várias estruturas em comum às dos animais, tais como mitocôndrias,

retículo endoplasmático, Complexo de Golgi, e organelas características dos apicomplexas: roptrias, micronemas, anéis polares e conóide. Essas formas se multiplicam rapidamente no organismo dos hospedeiros intermediários através do sangue e da linfa, reproduzindo-se assexuadamente no interior das células por endodiogenia, que é uma forma especializada de reprodução na qual duas células filhas são formadas no interior de uma célula mãe, que se degenera ao fim do processo. Esta forma de divisão exclusiva ocorre durante a formação de taquizoítos e bradizoítos, e difere do processo que ocorre nos enterócitos do hospedeiro definitivo ou no interior do oocisto (DUBEY et al., 1998).

Após penetrarem na célula hospedeira, alguns taquizoítos se desenvolvem mais lentamente, dando origem aos bradizoítos, que irão formar os cistos. Os bradizoítos são semelhantes aos taquizoítos, porém, se multiplicam de forma lenta e são funcionalmente diferentes (MONTROYA & LIENSENFELD, 2004), os cistos teciduais, por sua vez, contêm centenas de bradizoítos e podem se desenvolver em vários órgãos, como pulmão, fígado, rins, porém, são mais encontrados na musculatura (esquelética e cardíaca) e tecido nervoso, incluindo cérebro e olhos (DUBEY, 2004).

Os felídeos podem se infectar através da ingestão de qualquer uma das três formas evolutivas, sendo que a via mais freqüente é a ingestão do cisto tecidual através do carnivorismo (SWANGO et al, 1989), que induz a uma maior produção e eliminação de oocistos nas fezes.

Os gatos, ao ingerirem os cistos teciduais, desenvolvem o ciclo entero-epitelial (WONG & REMINGTON 1993), no qual a parede do cisto é digerida por enzimas proteolíticas do estômago e intestino delgado, eliminando assim os bradizoítos. Alguns bradizoítos podem se multiplicar na lâmina própria do intestino e se multiplicar em taquizoítos, e em poucos instantes podem se encontrar em vários tecidos. Os outros podem penetrar nas células epiteliais do intestino delgado e desenvolver numerosos esquizontes (DUBEY & FRENKEL, 1972).

Durante a fase de infecção aguda, milhões de oocistos são eliminados através das fezes dos felídeos sob a forma não esporulada e não

infectante por um período de sete a 21 dias (FRENKEL et al., 1970; FIALHO & ARAÚJO et al., 2003). A esporulação acontece no meio ambiente, varia de um a cinco dias e depende da quantidade de oxigênio e da temperatura. Os oocistos são bastante resistentes às condições ambientais (DUBEY et al 1970; TENTER et al., 2000).

Em animais, cuja carne é destinada ao consumo humano no Brasil, 9,6% dos suínos (SUARÉZ-ARANDA, et al., 2000), 19,25% dos bovinos e 24,5% dos ovinos (HASHEMI- FESHARK, 1996), apresentaram positividade para o *T. gondii*, o que demonstra a importância do consumo de carne como uma das fontes de contaminação humana se não houver cozimento adequado do alimento (DUBEY, 1996).

Estudos soroepidemiológicos demonstram que no Brasil a infecção em bovinos está amplamente disseminada (COSTA & COSTA, 1978; GARCIA, 1979), sendo encontradas nos estados de Minas Gerais (COSTA & COSTA, 1977), em São Paulo (COSTA et al., 1977; 1978; MARTINELLI & STOBBE, 2001; OLIVEIRA et al., 2001), no Rio Grande do Sul (SILVA et al., 1985), no Paraná (MARANA et al., 1994; GARCIA et al., 1999) e Paraíba (ALVES et al., 1997), Pernambuco (SILVA, 2003).

No Brasil, Costa et al., (1978 a), (1978 b) realizaram as primeiras pesquisas sobre a infecção toxoplásmica em bovinos no estado de São Paulo e Minas Gerais. Concluíram nesse estudo que a sorologia (RIFI) é um meio importante para o diagnóstico e que títulos ascendentes indicam infecção recente (AMATO NETO et al., 1995).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é importante, uma vez que a infecção pode ser confundida com outras doenças, como leptospirose, brucelose, clamidiose, neosporose, dificultando a execução de medidas de controle (VIDOTTO, 1992; DA SILVA et al, 2002).

A confirmação do diagnóstico sorológico pode ser realizada através da demonstração de títulos ascendentes de anticorpos anti-*T. gondii* em soros pareados ou pela demonstração de títulos séricos elevados de anticorpos numa única amostra de soro, porém a não comprovação de título ascendente ou elevado não exclui o diagnóstico de toxoplasmose (LAPPIN, 2004).

Nos herbívoros, a infecção ocorre principalmente através da ingestão de oocistos em alimentos e solos contaminados (DUBEY,1986). Acredita-se que os bovinos sejam resistentes à infecção, devido ao fato de cistos na musculatura serem menos frequentes e persistirem por menor tempo, quando comparados com outras espécies animais (DUBEY, 1994).

A toxoplasmose foi diagnosticada pela primeira vez em bovinos na Alemanha por Houersdorf & Holtz (1965), demonstrando a presença do parasito em três vacas, um touro e dois bezerros, oriundos de quatro rebanhos de diferentes partes do Estado de Ohio-EUA.

Existem vários testes sorológicos para diagnosticarem a toxoplasmose, sendo os mais comuns a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), hemoaglutinação indireta (IHA), Fixação de Complemento (FC), teste Sabin-Feldmann (dye test) e ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) (SIKES, 1982).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é a prova mais utilizada para o diagnóstico da toxoplasmose, considerado como técnica padrão. Consideram-se positivos títulos superiores ou iguais a 64 (COSTA et al, 1977; SOUZA, 2001).

Existe uma grande variação na prevalência da infecção toxoplásmica nas diferentes regiões do mundo, devido às diferentes técnicas empregadas, o que torna os resultados difíceis de serem comparados (CHHABRA et al., 1985).

As principais medidas de controle para a toxoplasmose bovina devem ser a eliminação da contaminação das pastagens com fezes de gatos contendo oocistos e a remoção de tecidos do ambiente e fluidos fetais provenientes de abortos. Orientações higiênico-alimentares, para o cozimento adequado de carnes, ingestão de leite pasteurizado e queijo fresco (HIRAMOTO et al., 2001), no tratamento da água e lavagem de frutas e verduras (REMLINGTON et al., 1995).

3.3 *Leptospira* spp.

A leptospirose é uma infecção de vasta distribuição mundial que acomete animais vertebrados e o homem (CÔRTEZ, 1993; COLEMAN, 2000), descrita pela primeira vez em humanos em 1886 e chamada de Doença de Weil; o agente etiológico, entretanto, só foi isolado em 1916, por Inada et al., no Japão. Só em 1918, o gênero *Leptospira* foi estabelecido por Noguchi, através do isolamento do microrganismo de um rato (STEELE et al., 1957).

A leptospirose se apresenta como uma doença endêmica e de alta morbidade em todos os países, porém os seus sorovares variam de região para região (CORREIA; CORREIA, 1991).

Apresenta alta prevalência em países tropicais, o que é explicado pelas altas precipitações pluviométricas e solo neutro a alcalino (ALMEIDA, 1999). A presença e a sobrevivência do agente no ambiente são favorecidas, sobretudo, pela umidade e pH neutro (HOMEM et al., 2001).

A leptospirose é causada por uma bactéria da ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira* (NOGUCHI, 1918). O gênero *Leptospira* foi inicialmente dividido em duas espécies: *L. interrogans* e *L. biflexa*. Esta classificação baseava-se em critérios sorológicos, nos quais eram incluídos os sorogrupos e sorovares de *Leptospiras* patogênicas e saprófitas (QUINN et al., 1994). Atualmente, acredita-se que existam aproximadamente 300 sorovares de *L. interrogans* divididas em 24 sorogrupos (AHMED et al., 2007). Os sorovares de *L. biflexa* são de vida livre, não patogênicos. Já os de *L. interrogans* abrangem todos os que infectam humanos e animais (SCHIMIDT et al., 2002).

Cada sorovar é representado por uma estirpe de referência, determinada por teste de aglutinação cruzada e teste de absorção de aglutininas. Em 1987 o Subcomitê de Taxonomia de leptospirose definiu que duas estirpes pertencem ao mesmo sorovar se 10% dos anticorpos homólogos permanecerem em ambos os soros após absorção. Os sorovares, por sua vez, que apresentarem qualquer semelhança sorológica, porém com diferenças

antigênicas individuais, serão reunidos em sorogrupos (FAINE et al., 1999). A classificação sorológica vem sendo substituída pela classificação genotípica, na qual a espécie inclui todos os sorovares de *L.interrogans sensulato* e *L. biflexa sensulato* (QUINN et al., 1994).

Em bovinos, a leptospirose provoca aborto, infertilidade, anorexia, pirexia, apatia, icterícia, anemia hemolítica, hemoglobinúria, mastite e até morte, dependendo do sorotipo envolvido e da idade do indivíduo acometido (HOMEM et al., 2001). Quando presente nos rebanhos, difunde-se rapidamente, alcançando altos índices de morbidade com casos mais graves em animais mais jovens (ALMEIDA, 1999). Mineiro et al. (2007) constataram a associação entre infecção e ocorrência de transtornos reprodutivos, sendo *Hardjo* o sorovar que apresentou maior associação.

No Brasil, o primeiro isolamento de *Leptospiras spp.* foi feito por Freitas et al (1957), classificado por *Pomona*. Em 1961, Santa Rosa et al., isolaram uma estirpe do sorovar *icterohaemorrhagiae*.

Em um levantamento sorológico para leptospirose feito em vários estados do Brasil por Favero et al. (2001), foram encontradas as seguintes faixas percentuais de animais reativos a pelo menos uma variante sorológica: SC, CE, PR, DF, SP e PA (25,20% a 38,30%); PB, TO, RJ, MG, GO, RO, RN, PI, MA e AL (40,70 a 58,40%); BA, ES, MS e MT (superior a 61,00%).

A transmissão da *Leptospira spp.* pode ocorrer pelo contato da urina ou órgãos de animais portadores direto com a pele lesionada, mucosa oral e conjuntival. A via respiratória também é importante para o rebanho, pela proximidade dos animais, por meio de gotículas contaminadas, como a urina e o leite (VASCONCELLOS et al., 1997).

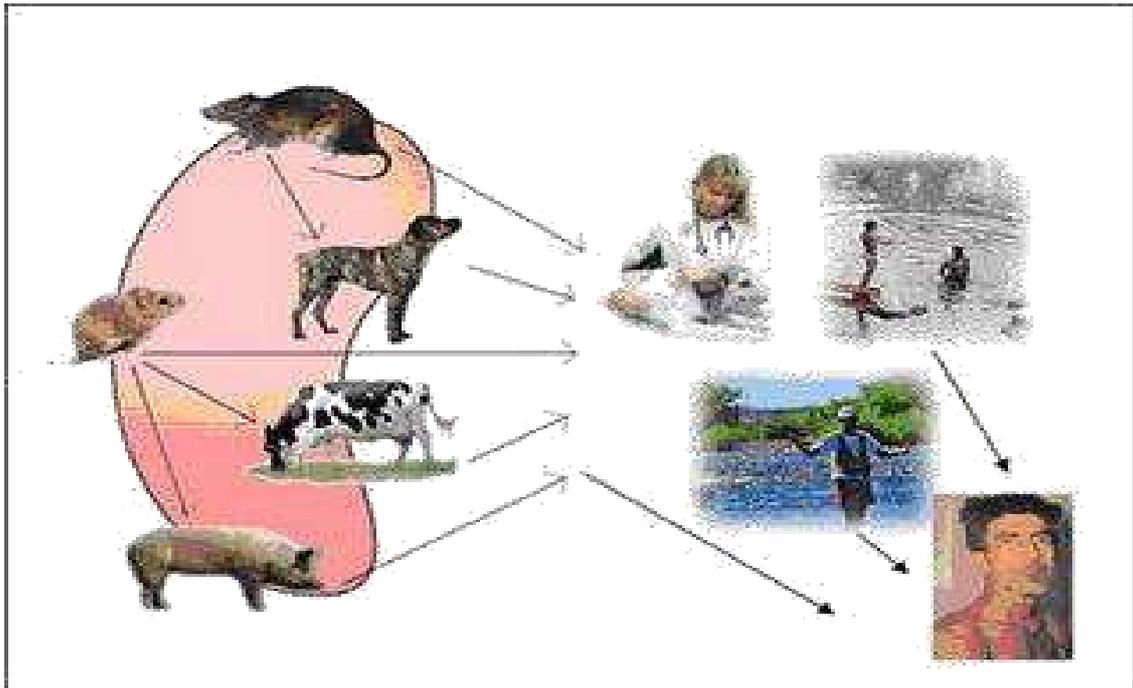


FIGURA 3: Ciclo de transmissão do *Leptospira spp.*

Fonte: Google.

Animais domésticos, silvestres e sinantrópicos servem como reservatórios da leptospirose. Em ecossistemas rurais e urbanos, o principal reservatório da *Leptospira* é constituído pelos roedores sinantrópicos, entre os quais o *Rattus norvegicus* (ratazana) ocupa uma posição de destaque em todo o mundo, devido à sua facilidade de deslocamento e por não apresentarem sinais da infecção, comportando-se como portadores saudáveis, albergando as *Leptospiras* nos rins e eliminando-as no meio ambiente, contaminando a água, o solo e os alimentos (BRASIL, 1995).

A patogenia da *Leptospira spp.* dá-se através da penetração dos microrganismos pelas mucosas, pele escarificada ou íntegra. Após atravessar tal barreira, ocorre multiplicação no sangue, linfa e líquido, caracterizando um quadro agudo de septicemia (leptospirose) (MYERS, 1985). As primeiras lesões se devem à ação mecânica do microrganismo nas células, ocasionando lesões dos pequenos vasos e derrame sanguíneo para os tecidos (hemorragia) na fase aguda da infecção (BRASIL, 1995).

A leptospirose termina quando anticorpos surgem na circulação dez dias após o início da infecção, favorecendo a eliminação de *Leptospiras* na

corrente sanguínea e órgãos acometidos. As *Leptospiras* podem persistir nos rins e causar extensas lesões, como necrose, atrofia e hemorragia renal (FAINE, 1982) e são eliminadas na urina (leptospiúria) por períodos que variam de dias a anos, o que explica a epidemiologia da leptospirose, na qual a transmissão ocorre pela exposição à urina de animais infectados ou ambientes contaminados pela mesma (PLANK & DEAN, 2000; ACHA & SZYFRES, 2001).

Em animais portadores, a leptospirose geralmente é caracterizada por uma baixa resposta sorológica, com poucos sinais clínicos agudos e um prolongado estado de portador renal que pode estar associado ao estado crônico da doença. Em hospedeiros acidentais, a *Leptospira spp.* causa doença severa com altos títulos de anticorpos aglutinantes e apresenta um curto ou quase nenhum estado de portador renal (BOLIN & ALT, 1999).

Os sorovares mais frequentemente encontrados na América são: *Pomona*, *Hardjo*, *Wolffi* e *Grippotyphosa* (ALMEIDA, 1999).

O diagnóstico da leptospirose é dificultado pela grande variedade de sorovares e pela possibilidade de ocorrência de infecção por mais de um sorovar (ACHA; SZYFRES, 2001).

Para o diagnóstico sorológico, os testes mais utilizados são o de macroaglutinação e microaglutinação, que avaliam amostras de pelo menos 10% do rebanho (BOLIN & ALT, 1999). O teste de macroaglutinação é considerado gênero específico, e deve ser utilizado como prova de triagem. Os antígenos empregados constam de suspensão concentrada de *Leptospiras spp.* inativadas pelo formol e podem ser adquiridos em kits comerciais. No entanto esta prova apresenta algumas divergências, como o aparecimento frequente de resultados falso negativos e com menor freqüência de falso positivos. Segundo o recomenda do fabricante, o teste reage melhor contra soros colhidos na fase aguda da doença (LANGONI, 1996).

O teste de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos é considerada a técnica de referência para o diagnóstico da leptospirose. Nesta técnica, observam-se fenômenos de co-aglutinação, ou seja, a presença de anticorpos contra mais de um sorovar de *Leptospira spp.*, neste caso a

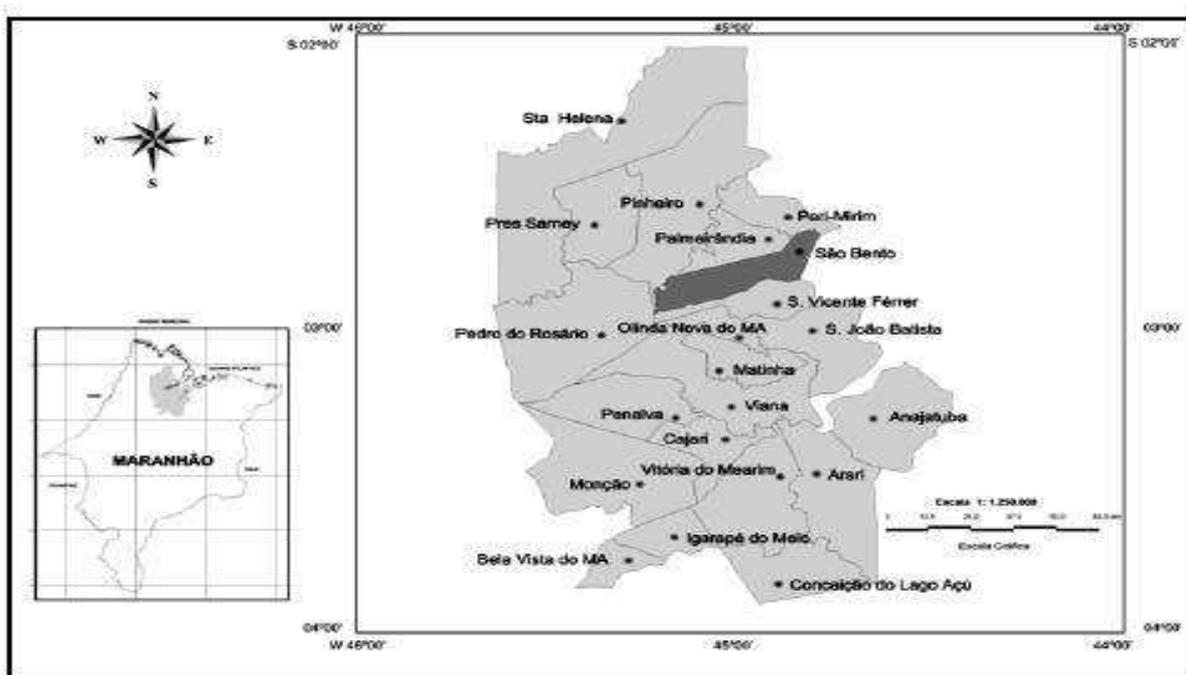
interpretação dos resultados é considerar o título mais alto e persistente na evolução como provável responsável (LANGONI, 1996). A SAM detecta tanto anticorpos do tipo IgG como IgM e sua resposta é indicativa do possível sorovar infectante, cuja caracterização só é possível através do isolamento e identificação do agente (GUIMARÃES et al., 1983).

A erradicação da leptospirose é praticamente impossível, entretanto, pode-se mantê-la sob controle através de vacinações (LEITE, 2000), que devem ser realizadas a cada seis meses em todos os animais do rebanho com idade acima de três meses, sendo que as vacinas devem conter as soroviedades mais prevalentes na região. A vacinação e a realização de testes sorológicos regulares para a verificação de novas infecções, geralmente são medidas profiláticas eficazes no controle de novos surtos da doença (RIET-CORREA et al., 2001), além da adoção de medidas de saneamento, que incluem destino adequado do lixo doméstico, armazenagem correta dos alimentos, evitar aglomeração de entulhos, que possam servir de abrigos para roedores. Um destino adequado aos esgotos e à água são fundamentais para diminuir a contaminação ambiental (BRASIL, 1995).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado nos municípios de Vitória do Mearim, Arari,



A microrregião da Baixada Maranhense é uma das microrregiões do estado brasileiro do Maranhão pertencente à mesorregião Norte Maranhense. Está situada a oeste e sudoeste da ilha de São Luís, é formada por grandes planícies baixas, que alagam na estação das chuvas, criando enormes lagoas entre os meses de janeiro e julho. Sua população foi estimada em 518.241 habitantes e está dividida em 21 municípios, com uma área total de 17.579.366 km² conforme divisão político-administrativa da Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico, Laboratório de Geoprocessamento/UEMA (Geplan 2002).

A pecuária maranhense caracteriza-se por ser do tipo extensiva, cujo rebanho bovino leiteiro é de aproximadamente 580.405 cabeças (9% do

rebanho total). Dessas, estima-se um número de 462.459 vacas ordenhadas, com produção leiteira de 286.857 litros/ano (IBGE 2006).

4.2 Amostra

As amostras foram selecionadas não probabilisticamente por conveniência, compreendendo 280 bovinos oriundos de propriedades rurais, de raças variadas, com diferentes fases e números de lactações, apresentando histórico ou não de distúrbios reprodutivos, criados em regime extensivo, exploração mista e sem assistência de médico veterinário.

4.3 Colheita do material

A colheita das amostras foi realizada por venopunção caudal de cada animal, após prévia anti-sepsia com álcool iodado a 3%, utilizando-se agulhas 40 x 12 descartáveis e tubos de ensaio individuais devidamente esterilizados e identificados com os dados dos animais.

As amostras foram centrifugadas a 243g por cinco minutos e os soros estocados em tubos “eppendorf” e congelados a -20° até o momento de serem processados no Laboratório de Doenças Parasitárias e de Zoonoses Bacterianas do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva-VPS da Universidade de São Paulo-USP no período de novembro e dezembro de 2010.

No momento das colheitas, realizou-se inquérito investigativo aos produtores rurais, aplicando-se questionário investigativo, contendo 10 questões fechadas, em busca de se conhecer o manejo e a sanidade do rebanho.

4.4 Exames sorológicos

4.4.1 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *Neospora caninum*

As amostras de soro sanguíneo dos bovinos foram submetidas a RIFI para detecção de anticorpos contra *N.caninum*, segundo a metodologia preconizada por Dubey et al. (1988b). Foi utilizado ponto de corte de 1:100.

As leituras das reações foram realizadas em microscópio equipado para fluorescência da marca Olympus (modelo BX 60 F5) no aumento na objetiva de 40x. As reações foram consideradas positivas, quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total (PARÉ et al., 1995). As reações com fluorescência parcial ou apical foram consideradas negativas. Os controles negativos não apresentaram qualquer reação de fluorescência. As amostras de soros reagentes na diluição 1:200 foram consideradas positivas e diluições seriadas foram realizadas para determinação do título de anticorpos.

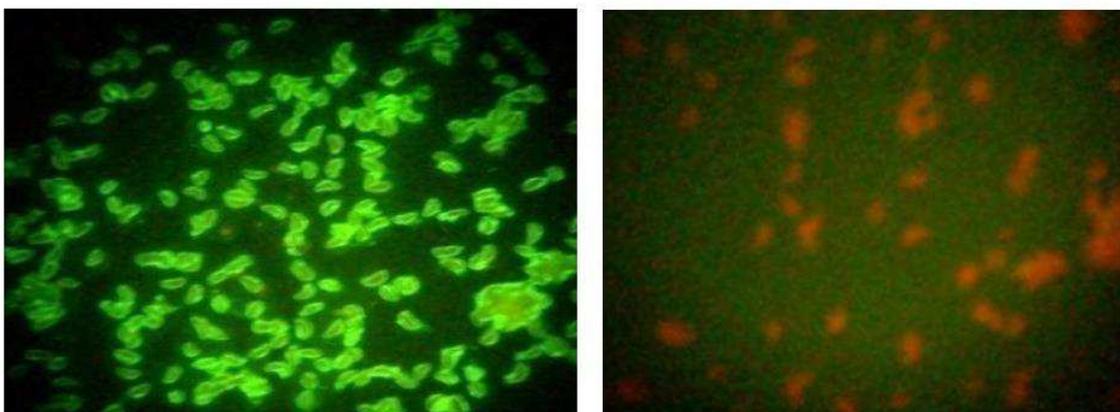


FIGURA 4: (1) amostra reagente (2) amostra não reagente anticorpos anti –*N. caninum* pela RIFI.

4.4.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *Toxoplasma gondii*

Os soros foram analisados pela RIFI para detecção de anticorpos contra *T. gondii*, segundo Camargo (1974) e testados inicialmente a uma diluição de 1:64 (DUBEY & LINDSAY, 1996). As leituras das reações foram realizadas em microscópio equipado para fluorescência da marca Olympus (modelo BX 60 F5) no aumento na objetiva de 40x. As reações foram consideradas positivas quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total na maioria dos campos. Seguindo os mesmos procedimentos, em todos os soros positivos na diluição 1:64 (FIGLIUOLO et al., 2004) foram consideradas positivas e diluições seriadas foram realizadas para determinação do título de anticorpos.

4.4.3 Sorodiagnóstico da Leptospirose através da Soroaglutinação Microscópica (SAM) com antígenos vivos

A técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), preconizada pela Organização Mundial de Saúde-OMS para o diagnóstico da leptospirose, foi empregada para mensurar os níveis de aglutininas para todas as amostras de soros.

Os soros foram mantidos à temperatura ambiente para descongelamento. Uma alíquota de 100µL do soro foi adicionado à 4,9 mL de solução salina de Soresen. Cada amostra foi testada com 24 sorovares da coleção de referência do Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Universidade de São Paulo-USP. Foi empregada a microtécnica de soroaglutinação microscópica (GALTON et al., 1965; COLE JR., 1973).

A soroaglutinação microscópica foi realizada com uma coleção de culturas vivas de *Leptospira spp.*, totalizando 24 variantes sorológicas, apresentadas no quadro 1, as culturas de *leptospiras* foram mantidas em meio líquido de EMJH (DIFCO™) modificado (ALVES, 1997).

Cada amostra de soro foi diluída a 1:50 em solução salina tamponada. Desta diluição foram retirados 50 µL e distribuídos em microplacas e acrescido de 50 µL de cada antígeno, obtendo-se uma nova diluição de 1:100. Cada amostra foi testada com 24 sorovares e incubadas a 28°C por 3 horas.

As leituras foram realizadas em microscópio óptico Jena Zeiss, com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva Epiplan 10 x e de ocular 100x, observando-se a formação de aglutinações. O grau de aglutinação foi lido e avaliado com base nos seguintes critérios: quando pelo menos 25% das *Leptospiras* estavam aglutinadas no campo microscópico; quando ocorrido em 50% delas; quando cerca de 75% se achavam aglutinadas; e quando a aglutinação estava entre 75 a 100%.

O título das reações positivas foi considerado a recíproca da mais alta diluição do soro, na mistura soro-antígeno que apresentou 50% ou mais das *Leptospiras* aglutinadas por campo microscópico (FAINE et al., 1999). Esta percentagem foi tomada tendo como referência o tubo controle: volumes iguais (0,05mL) de solução salina de Soresen acrescido ao antígeno.

Os soros reatores na triagem (diluição 1:100) foram titulados com os respectivos antígenos reagentes.

O provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título, na ocorrência de empate sorológico para dois ou mais sorovares, o animal foi desconsiderado desta análise.

QUADRO 1: Antígenos empregados na Soroaglutinação Microscópica (SAM) aplicada a leptospirose, segundo código de identificação do laboratório, sorogrupo, sorovar e estirpe-São Paulo-2008

Código	Sorogrupo	Variante Sorológica	Estirpes
1-A	Australis	Australis	Ballico
1-B	Australis	Bratislava	Jez Bratislava
2-A	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
2-B	Autumnalis	Autumnalis	Butembo
3	Ballum	Castellonis	Castellon 3
4	Batavia	Bataviae	Swart
5	Canícola	Canícola	Hondrutrecht IV
6	Celledoni	Whitcombi	Whitcomb
7	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
8	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
9	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
10-A	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M 20
10-B	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
11	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46
12	Panama	Panama	CZ 214 K
13-A	Pomona	Pomona	Pomona
14	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
15-A	Sejroe	Hardjo (Hardjoprajitno)	Hardjoprajitno
15-B	Sejroe	Wolffi	3705
15-C	Sejroe	Hardjo (Hardjobovis)	Sponselee
16	Shermani	Shermani	1342 k
17	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
20	Seramanga	Patoc	Patoc 1
ST	Djasiman	Sentot	Sentot
Mini	Mini	Mini	Mini

4.5 Análise estatística

Utilizou-se estatística descritiva através de distribuições absolutas e percentuais pelo teste Qui-quadrado (X^2), corrigidas por Yates, quando este não foi possível, utilizou-se o teste Exato de Fisher, segundo Sampaio (2007), utilizando-se o Programa Epi Info (CDC, versão 3.4.3). Associações entre variáveis e frequência de animais soropositivos foram estimadas a partir do nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e pela Odds Ratio (OR), com intervalo de confiança de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Frequência de anticorpos contra *Neospora caninum*

Das 280 amostras séricas colhidas de bovinos de exploração mista da região da Baixada Maranhense-MA, testadas pela Reação de Imunofluorescência Indireta para *Neospora caninum*, estimaram-se frequência de 20,00% (56/280).

O resultado obtido neste estudo para a presença de *N. caninum* (20,00%) foi maior que os obtidos por Pita Gondim em 1999 na Bahia, que encontrou 15,71% de soroprevalência e Jesus (2001) que encontrou 10,49% no Paraná, Ogawa et al.,(1999) encontraram 11,69%. Corbellini (2001) encontrou 11,20% em Porto Alegre, Sartor et al., (1999) observaram um percentual de 16,30%, Hasegawa (1999) encontrou 15,57% e Costa et al., (2001) que observaram percentual de 16,83% ; Minervino et al. (2008) encontraram 17,5% em Santarém-Pará, .Gennari (2004) identificou frequências de 8,7% no estado de Rondônia.

A frequência observada mostrou-se inferior às registradas por Silva et al (2002), que encontraram 34,70% no estado de Pernambuco; 67,85% no estado de São Paulo por Belo et al (1999), e 53,60% (STOBBE & CÔRTES, 1999), na região nordeste do estado de São Paulo. que observaram a presença de 62,90% dos animais soropositivos para anticorpos anti- *N. caninum*. Resultados similares foram encontrados por MELO et al (2001) em Minas Gerais (20,05%), e 22,22% em São Paulo (REZENDE et al,1999).

Nos municípios estudados foram registradas soropositividade de 4,20% (2/46) em Vitória do Mearim, 19,20% (10/52) em Pinheiro, 7,40% (5/68) em Arari, 41,60% (32/77) em Cajari e 20,00% (7/35) em Viana (TABELA 1).

TABELA 1: Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em soros bovinos da região da Baixada Maranhense-MA

Municípios	Reagentes	%	Não reagentes	%	Total	OR	P
Arari	5	7,40	63	92,60	68	0,11	0,000012*
Cajari	32	41,60	45	68,40	77		
Pinheiro	10	19,20	42	58,40	52		
Viana	7	20,00	28	80,00	35		
Vitória do Mearim	2	4,20	46	95,80	48		

*Diferença significativa

Verificou-se associação significativa ($p < 0,05$) sendo que o município de Cajari apresentou maior frequência de amostras positivas (41,60%), e o município de Vitória do Mearim menor frequência. Este resultado contradiz os resultados encontrados por Mainar-Jaime *et al.* (1999), que ao examinar bovinos procedentes de 43 propriedades leiteiras, pertencentes a três municípios da região da Astúria – Espanha, não encontraram diferença significativa entre a frequência de sororeagentes a *N. caninum*, quanto à procedência dos animais.

A comparação dos resultados de diversos estudos deve ser analisada com cuidado, pois estudos de ocorrência do *N. caninum* apresentam resultados que podem variar de acordo com a região estudada, o tipo da técnica sorológica utilizada e o ponto de corte, além do histórico da propriedade e dos animais examinados (GENNARI, 2004).

A tabela 2 apresenta a distribuição dos títulos de anticorpos contra *N. caninum*. Considerando-se as 56 amostras séricas soropositivas, os títulos obtidos foram de 1:200; 1:400; 1:800 e 1:1600, com números de amostras de 37 (66,10%), 12 (21,40%), 6 (10,70%) e 1 (1,80%) respectivamente. Estes índices encontrados foram superiores aos observados na Bahia por Gondim (1999), em relação ao título de 1:200, que apresentou 17 (27,87%) amostras e no Paraná, que registrou 19 (42,22%) amostras (OGAWA *et al.*, 1999b). (SOUZA *et al.*, 2001) registraram título de 1:200, com 63 (40,40%) e 61 (39,00%) no Estado de São Paulo. Ogawa *et al.* (1999) encontraram dez

(22,22%) amostras com títulos de 1:400. Os resultados foram inferiores aos encontrados por Souza et al., (2001) que registraram 33 (20,6%) amostras soropositivas para o título de 1:800 no estado de São Paulo e sete (15,55%) para título 1:1600 registrado por Ogawa et al., (1999b).

TABELA 2: Distribuição dos títulos de anticorpos contra *N. caninum* (RIFI) em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Recíproca dos títulos	Animais	Soropositivos %
200	37	66,10
400	12	21,40
800	6	
1200	1	10,70
Total	56	1,80

Em relação ao sexo houve associação significativa ($p < 0,05$) indicando que as fêmeas tiveram mais chances de se infectarem com *N. caninum* (24,20%) que os machos (OR=.8,7). este fato pode ser explicado devido ser maior o número de fêmeas amostradas. Porém em relação à raça e à faixa etária não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Os animais mestiços (20,50%) foram fatores de risco (OR= 2,83). Os animais com idade inferior a 24 meses (28%) foram fatores de risco (OR= 1,89) (TABELA 3).

TABELA 3: Distribuição da frequência das variáveis sexo, raça e idade de anticorpos contra *N. caninum* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	Soropositivos		Soronegativos		Total	OR	P
	N	%	N	%			
Sexo							
Ma	2	3,5	55	96,5	56		
Fe	54	24,2	169	75,8	224	0,7	0,718
Raça							
M	55	20,5	213	79,5	268		
Z	1	8,3	55	96,5	57	8,7	0,0009*
Idade							
>24	35	17,1	170	82,9	205		
<24	21	28	54	72	75	1,89	0,0635

*Associação significativa M: mestiços Z: Zebu

Resende e Rio Claro, estado do Rio de Janeiro, não encontraram nenhuma interferência em relação à idade dos bovinos e as soroprevalências encontradas, sugerindo que animais de qualquer idade têm a mesma predisposição ao *N. caninum*.

Porém, Guimarães Júnior et al. (2004) e Ragozo et al. (2003), também no Brasil, encontraram maior soropositividade para anticorpos contra *N. caninum* com o aumento da idade dos animais, sugerindo que a idade é um fator de risco para a infecção, o que difere dos resultados obtidos neste estudo.

Existem poucos estudos relacionando a soropositividade para *N. caninum* e raça, provavelmente pelos mesmos serem realizados com predomínio de rebanhos sem raça definida, de padrão racial muito próximo ou de apenas uma raça (TEIXEIRA et al., 2010).

A variável presença de outras espécies na propriedade apresentou frequência de 25% de cães, 2,9% de equinos, 23,1%. Não houve

diferença significativa entre a variável outras espécies ($p > 0,05$). Esta variável foi fator de risco para a infecção ($OR = 11$). A presença de outras espécies na propriedade é um fator importante na cadeia de transmissão do agente, pois tais espécies também podem albergar o parasito em seu organismo. O número de cães foi maior, por estes serem os hospedeiros definitivos e também intermediários da neosporose, servindo como disseminadores da doença para os bovinos existentes nas propriedades (TABELA 4).

A variável histórico de abortamento foi fator de proteção à infecção com frequência de 22,2% para os animais que não abortaram ($OR = 0,11$).

A variável áreas alagadiças apresentou associação significativa ($p < 0,05$) com frequência de 24,3% para propriedades que apresentavam áreas alagadiças, às quais o gado tinha acesso. A variável compra de machos ou fêmeas foi fator de proteção à infecção com frequência de 23,6% para as propriedades que não compravam animais ($OR = 0,23$). A frequência pode ter sido maior devido ao fato do número amostrado de propriedades que não compravam animais ser também maior. A compra de machos ou fêmeas não foi um agravante para a transmissão da neosporose nos rebanhos.

TABELA 4: Distribuição da frequência das variáveis presença de animais na propriedade, histórico de abortamento, áreas alagadiças, compra de fêmeas ou machos, para anticorpos contra *N.caninum* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	Soropositivos		<i>N. caninum</i> Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Presença de outras espécies na Propriedade							
Aves	-	-	13	100	13	11	1,000
Cão	4	25	12	75	16		
Equídeos	1	2,9	33	97,1	34		
ovinos/caprinos	1	100	-	-	1		
mais de uma	50	23,1	166	76,9	216		
Histórico de abortamento							
Sim	1	3,1	31	77,8	32	0,11	0,021*
Não	55	22,2	193	96,9	248		
Áreas alagadiças							
Sim	56	24,3	174	75,7	230	-	0,0002*
Não	-	-	50	100	50		
Compra machos ou fêmeas							
Sim	4	6,7	56	93,3	60	0,23	0,006*
Não	52	23,6	168	76,4	220		

*Associação significativa (-): não houve soropositivos

As variáveis exploração mista e aluguel de pasto foram fator de proteção contra a infecção (23% e 22,2%) (OR= 0,7 e 0,11). A neosporose bovina pode ocorrer tanto em animais de corte quanto de leite, sendo mais freqüente em rebanhos leiteiros (DAVISON et al., 1999; MAINAR-JAIME et al., 1999). O aluguel de pastos é uma prática muito comum em propriedades rurais, em que os produtores costumam ceder seu pasto para outras propriedades na existência de carência de pasto em períodos de seca em algumas épocas do ano, aumentando assim o seu lucro, o que pode também ocasionar aumento da proliferação de muitas enfermidades, devido o contato com animais de várias propriedades. Em relação à assistência veterinária, verificou-se freqüência mais elevada nos animais procedentes de propriedades que não a utilizavam (55%), não sendo observada associação significativa. Este fato demonstra a importância da assistência veterinária como medida de redução dos índices de doenças no meio rural (TABELA 5).

TABELA 5: Distribuição da frequência das variáveis tipo de exploração, uso de IA, aluguel de pastos, assistência veterinária, para anticorpos contra *N.caninum* em bovinos da Baixada Maranhense-MA.

Variáveis	Soropositivos		<i>N. caninum</i> Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Tipo de exploração							
Corte	25	17,2	120	82,8	145	0,7	0,222
Mista	31	23	104	77	135		
Uso de IA							
Sim	-	-	22	100	22	-	0,001
Não	56	21,7	202	78,3	258		
Aluguel de pastos							
Sim	1	3,1	31	77,8	32	0,11	0,021*
Não	55	22,2	193	96,9	248		
Assistência veterinária							
Sim	1	7,7	12	92,3	3	2	0,472
Não	55	20,6	212	79,4	267		

*Associação significativa

5.2 Frequência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii*

Estimou-se uma prevalência de 3,6% (10/280) para *T. gondii* nos municípios estudados. Na literatura mundial sobre pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos encontram-se valores discrepantes, com uma variação de zero a mais de 50% dos animais pesquisados positivos (DUBEY; BEATTIE 1988). No Brasil, os valores de ocorrência de *T. gondii* variam de 1,03% (GONDIN et al.,1999) a 49,17% (COSTA et al., 1977a). Este resultado foi superior ao encontrado por Pita Gondim (1999) no estado da Bahia (0,76%); por Ogawa et al., (1999a) no Paraná (0,78%) e por Gondin (1999) no estado da Bahia(1,03%). Resultado semelhante foi encontrado por Silva et al., (2003) no Pernambuco (2,60%). Todavia, mostrou-se inferior aos resultados encontrados por Costa e Costa (1978) que observaram uma positividade de 12,0% em vacas leiteiras nos municípios de Botelho e Poços de Caldas em MG; no município de Jaboticabal-SP, em que encontraram-se 32,30% de positividade

(COSTA et al., 1978); Marana et al (1994) estimaram 32,34% em Londrina-PR; Costa et al.,1977 b) obtiveram percentual de 12,00% em Minas Gerais e Gondim (1999) registraram 4,76% na Bahia. Martinelli & Stobbe (2001) encontraram 53,70% em Araçatuba-SP.

Nos municípios estudados foram encontrados uma soropositividade de 4,2 % (2/48) em Vitória do Mearim, 1,9% (1/52) em Pinheiro; 3,9% (3/77) em Cajari e 11,4% (4/35) em Viana, e nenhum animal positivo em Arari das 68 amostra (TABELA 6). Estes achados nos permitem constatar que o *T. gondii* ocorre em bovinos da região da Baixada Maranhense.

TABELA 6: Frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos da região da Baixada Maranhense- MA

Municípios	Reagentes	%	Não reagentes	%	Total	OR	P
Arari			68	100	68	-	0,011*
Cajari	3	3,9	74	96,4	77		
Pinheiro	1	1,9	51	98,1	52		
Viana	4	11,4	31	88,6	35		
Vitória do Mearim	2	4,2	46	95,8	48		

*Diferença significativa (-): Não houve Odds Ratio

Os títulos das dez amostras encontram-se distribuídos da seguinte forma: sete (70,00%) amostras com título de 1:64, duas (20,00%) amostras com título de 1:256 e uma (10,00%) com título de 1:1024. Estes dados encontram-se na tabela 7. Com relação ao título 1:64, constatou-se que o resultado superou o percentual de 0,51% obtido no Paraná por Ogawa et al.(1999a). Resultados inferiores foram mostrados por Costa et al.(1978) , que encontraram 24,50% no estado de São Paulo; Marana et al.(1994) no Paraná encontraram 25,15%. O título 1:256 foi inferior ao observado por Marana et al.(1994) apresentando 6,25% e ao observado por Costa et al. (1978) com 7,8%.

Na maioria dos estudos realizados no Brasil para *T. gondii* em bovinos, a infecção é considerada relativamente baixa (COSTA, 1978).

TABELA 7: Distribuição dos títulos de anticorpos contra *T. gondii* (RIFI) em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Recíproca dos títulos	Animais	Soropositivos %
64	7	70
256	2	20
1024	1	10
Total	10	100

Com relação ao sexo, verificou-se que do total de animais soropositivos, 4% eram fêmeas (9) e 1,85 eram machos (1), não sendo esta associação significativa ($p > 0,05$). A variável sexo não foi fator de risco para o *T. gondii* ($OR=2,3$). Cassol et al. (2005) encontraram maior percentual de fêmeas reagentes em relação aos machos. Daguer et al. (2004) também não encontraram diferenças significativas em relação ao sexo. Em relação à idade, os animais com idade acima de 24 meses (5,3%) foram fatores de risco para a infecção ($OR=1,87$). Cassol et al. (2005) também encontraram maior soropositividade em animais com idade acima de 24 meses. Daguer et al. (2004) verificaram não haver associação entre idade e a presença de anticorpos contra *T. gondii* em bovinos para essa faixa etária. Em relação à variável raça, 3,7% dos animais mestiços foram reagentes para a infecção e não houve nenhum animal reagente para a raça zebu (TABELA 8).

TABELA 8: Distribuição da frequência das variáveis sexo, raça e idade para anticorpos contra *T. gondii* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	Soropositivos		Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Sexo							
Ma	1	1,8	56	98,2	57	2,3	0,668
Fe	9	4,0	214	96,0	223		
Raça							
M	10	3,7	258	96,3	268	-	1,000
Z	-	-	12	100	12		
Idade							
>24	6	5,3	199	97,1	205	1,87	0,465
<24	4	2,9	71	94,7	75		

(-): Não houve Odds Ratio M: mestiços Z: zebus

TABELA 9: Distribuição da frequência das variáveis presença de animais na propriedade, histórico de abortamento, áreas alagadiças, compra de fêmeas ou machos, para anticorpos contra *T. gondii* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	Soropositivos		T. gondii Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Presença de animais na Propriedade							
Aves	2	15,4	11	84,6	13	6,3	1,000
Cão	-	-	16	100	16		
Equídeos	2	5,9	32	94,1	34		
ovinos/caprinos	-	-	1	100	1		
mais de uma	6	2,8	210	97,2	216		
Histórico de abortamento							
Sim	2	6,3	30	93,8	32	2,0	0,713
Não	8	3,2	240	96,8	248		
Áreas alagadiças							
Sim	8	3,5	222	96,5	230	0,8	0,694
Não	2	4,0	48	96,0	50		
Compra machos ou fêmeas							
Sim	2	3,3	58	96,7	60	0,9	1,000
Não	8	3,6	212	96,4	220		

Não houve associação significativa (-): Não houve animais soropositivos

A variável presença de outras espécies na propriedade apresentou frequência 15,4% para aves, 5,9% de eqüinos, 2,8% para mais de uma espécie, não foi encontrada nenhum cão soropositivo nas propriedades e também nenhum ovino/caprino soropositivo. A presença de outras espécies na propriedade é um fator importante na cadeia de transmissão do agente, pois tais espécies também podem disseminar o parasito para o ambiente.

A variável histórico de abortamento não foi fator de risco para o *T. gondii* nas propriedades que apresentaram algum caso de abortamento (6,3%) em relação aos animais que não abortaram (OR=2,0). O histórico de abortamento é um indício de que a infecção esta presente no rebanho, mas não significa dizer que o abortamento tenha sido causado pelo *T. gondii*, visto que existem diversas enfermidades que também causam aborto.

A variável áreas alagadiças foi fator de proteção à infecção com frequência de 4% para propriedades que não apresentavam áreas alagadiças, às quais o gado tinha acesso (OR=0,8). A variável compra machos ou fêmeas também foi fator de proteção à infecção com frequência de 3,6% para as propriedades que não compravam animais (OR= 0,9).

A variável tipo de exploração, foi fator de risco para a infecção (OR= 8,8). A variável exploração de corte (6,2%) foi mais freqüente que a exploração mista. Com relação à variável uso de inseminação artificial, a frequência foi maior (9,1%) nas propriedades que não a utilizavam. A variável aluguel de pasto teve maior frequência (4,8%) em propriedades que utilizavam o aluguel de pastos para outras propriedades, o que funciona como um disseminador de infecção. A variável assistência veterinária apresentou frequência de 3,7% para propriedades que não tinham assistência veterinária.

TABELA 10: Distribuição da frequência das variáveis tipo de exploração, uso de IA, aluga pastos, assistência veterinária para anticorpos contra *T. gondii* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	Soropositivos		<i>T. gondii</i> Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Tipo de exploração							
Corte	9	6,2	136	93,8	145	8,8	0,020*
Mista	1	0,7	134	99,3	135		
Uso de IA							
Sim	2	3,1	20	90,9	22	3,1	0,180
Não	8	9,1	250	96,9	258		
Aluguel de pastos							
Sim	7	4,8	139	95,2	146	2,2	0,339
Não	3	2,2	131	97,8	134		
Assistência veterinária							
Sim	-	-	13	100	13	-	1,000
Não	10	3,7	257	96,3	267		

*Associação significativa

5.3 Frequência de animais sororreagentes para *Leptospira spp.*

A porcentagem de animais reagentes encontrada no estudo foi de 41,9% (116/280). Este resultado está acima dos resultados descritos por Jardim et al. (1978), que encontraram 20,57% de positividade em 418 amostras obtidas no estado de Goiás. Resultados superiores foram descritos por Madruga et al. (1980), que descreveram 74,30% de positividade para amostras obtidas no Estado do Mato Grosso do Sul. Viegas et al. (1986) citaram 68,90% em dois municípios do Estado da Bahia. A prevalência registrada por Lopez et al. (1990), no Chile, foi de 53,76%;

As frequências encontradas nos municípios foram 2,9% (2/68) em Arari, 6,5% (5/77) em Cajari, 73,1% (38/52) em Pinheiro, 71,4% (25/35) em Viana e 95,8% (46/48) em Vitória do Mearim. Houve diferença significativa ($p < 0,05$), que pode ter sido ocasionada por diferentes tipos de manejos adotados em cada municípios pelos proprietários. Os municípios foram fatores de risco para *Leptospira spp.* (OR=1,9) (TABELA 11).

TABELA 11: Frequência de animais positivos para *Leptospira spp.* por município em bovinos da região da Baixada Maranhense- MA

Municípios	Reagentes	%	Não reagentes	%	Total	OR	P
Arari	2	2,9	66	97,1	68	1,9	0,939*
Cajari	5	6,5	72	93,5	77		
Pinheiro	38	73,1	14	26,9	52		
Viana	25	71,4	10	28,6	35		
Vitória do Mearim	46	95,8	2	4,2	48		

*Não houve diferença significativa

No presente estudo, o sorovar *Wolffi* foi o mais freqüente (37,90%), seguido por *Hardjo* (*Hardjobovis*) com 25,90% e *Pomona* (12,90%) (FIGURA 5).

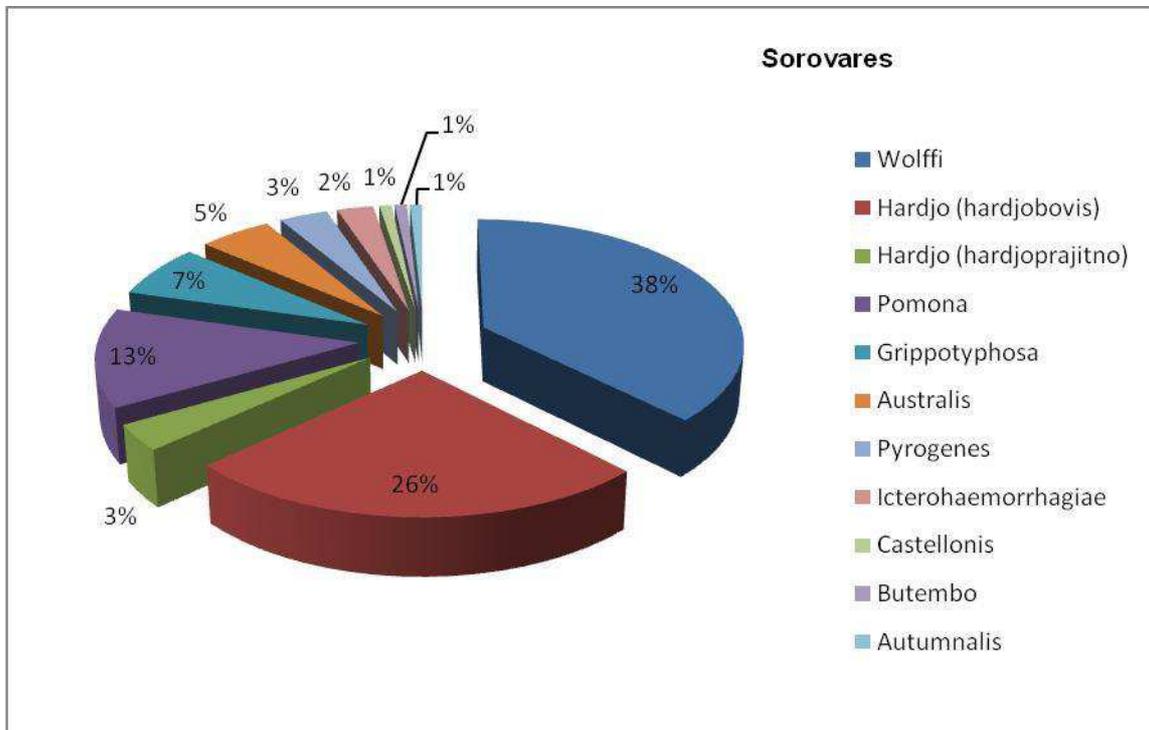


FIGURA 5: Frequência de animais reagentes aos sorovares de *Leptospira* spp. no teste de SAM em soros de bovinos da Baixada Maranhense-MA

A predominância de reações aglutinantes para o sorovar *Wolffi* (37,90%), também foi descrita por Jardim et al. (1978), que encontraram 50% de prevalência, e apareceu nos resultados de vários estudos de prevalência realizados no Brasil na década de 70: Cordeiro et al. (1975) no Rio de Janeiro; Doria & Santana (1976) e Caldas et al. (1977) na Bahia e Oliveira (1977) no Rio Grande do Sul. Doria *et al.* (1982), com 48,47% no Estado da Bahia e em dois rebanhos no estado de Goiás (CAMPOS JR. & FRENEAU, 1996). Moreira et al., (2010) em Goiás também encontraram maior quantidade do sorovar wolffi em estudo realizado em duas fazendas, apresentando 21,0% de prevalência na 1ª fazenda e 28,5% na 2ª fazenda. Segundo Lilenbaum (1996), essa estatística

modificou-se a partir da década de 80, com a inclusão do sorovar *Hardjo* na bateria de testes do sorovar SAM.

A presença do sorovar *Hardjo* como o segundo mais prevalente no estudo (25,90%) difere de resultados encontrados por Vasconcellos (1997), que o descreveu como o sorovar mais predominante em rebanhos dos Estados do sul, sudeste e centro-oeste do Brasil. Este resultado foi superior ao encontrado por Juliano et al., (2000), que obteve prevalência de 5,20% para o sorovar *Hardjo* em Goiás. Castro (2006) em São Paulo encontrou 46% de prevalência para o sorovar *Hardjo*.

Sorovares comuns aos bovinos, como *Hardjo* e *Wolffi*, são de transmissão direta, ou seja, a transmissão ocorre de um indivíduo para o outro e está diretamente ligada às condições de manejo. Fatores que podem favorecer a manutenção desses agentes no meio são: condições climáticas favoráveis, como alta temperatura e umidade, e pH dos solos, de neutro a alcalino (TOMICH et al., 2007).

O sorovar *Pomona* foi encontrado na prevalência de 12,90%. Embora este sorovar tenha sido descrito no Brasil relacionada apenas com animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1975; SANTA ROSA et al., 1980) confirma o envolvimento destas espécies como reservatórios deste sorovar para os bovinos.

Em relação à variável sexo, as fêmeas representam fator de risco às *Leptospiras* (43%) em relação aos machos. O número de fêmeas amostradas foi maior que o número de machos (TABELA 12).

A raça mestiça foi fator de proteção para a infecção (83,3%) em relação à raça zebu (OR= 0,13) Os animais com idade menor que 24 meses, foram fator de risco (50,7%).

TABELA 12: Distribuição da frequência das variáveis sexo, raça e idade para *Leptospira spp.* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	Soropositivos		Soronegativos		Total	OR	P
	N	%	N	%			
Sexo							
M	20	35,1	37	64,5	57	1,39	0,34
F	96	43,0	127	57,0	223		
Raça							
M	106	39,66	162	60,4	268	0,13	0,004*
Z	10	83,3	2	16,7	12		
Idade							
>24	78	38,0	127	62,0	75	1,67	0,078
<24	38	50,7	37	49,3	205		

*Associação significativa

A variável presença de outras espécies na propriedade apresentou frequência de 69,2% para aves, 81,3% de cães, 50% de equinos, 35,6% para mais de uma espécie, não foi encontrada nenhum ovino/caprino soropositivo nas propriedades. A presença de outras espécies na propriedade é um fator importante na cadeia de transmissão do agente, pois tais espécies também podem albergar o parasito em seu organismo e eliminá-lo no ambiente e esta variável foi associada à infecção (OR= 7,8).

A variável histórico de abortamento teve frequência de 78,1% para os animais que abortaram. A variável áreas alagadiças foi fator de proteção para a infecção (50%) para aquelas propriedades que não tinham áreas alagadiças (OR= 0,6). A variável compra machos ou fêmeas apresentou frequência de 58,3% para as propriedades que compravam animais. A aquisição de animais com finalidades para reprodução de procedência desconhecida pode servir como um fator de disseminação de doenças dentro de um rebanho. A compra de machos ou fêmeas foi um agravante para a transmissão da leptospirose nos rebanhos ($p < 0,05$).

TABELA 13: Distribuição da frequência das variáveis presença de animais na propriedade, histórico de abortamento, áreas alagadiças, compra de fêmeas ou machos, para *Leptospira spp.* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	<i>Leptospira spp.</i>				Total N	OR	P
	Soropositivos		Soronegativos				
	N	%	N	%			
Presença de animais na							
Propriedade	9	69,2	4	30,8	13	7,8	0,0008*
Aves	13	81,3	3	18,8	16		
Cão	17	50	17	50,0	34		
Equídeos	-	-	1	100	1		
ovinos/caprinos mais de uma	77	35,6	139	64,4	216		
Histórico de abortamento							
Sim	25	78,1	7	21,9	32	6,04	1,000
Não	91	36,5	157	63,3	248		
Áreas alagadiças							
Sim	91	36,7	139	60,4	230	0,6	0,230
Não	25	50,0	25	50,0	50		
Compra machos ou fêmeas							
Sim	35	58,3	25	41,7	60	2,4	0,004*
Não	81	36,8	139	63,2	220		

*Diferença significativa (-): Não houve animais soropositivos

TABELA 14: Distribuição da frequência das variáveis tipo de exploração, uso de IA, aluguel de pastos e assistência veterinária, para *Leptospira spp.* em bovinos da Baixada Maranhense-MA

Variáveis	<i>Leptospira spp.</i>				Total N	OR	P
	Soropositivos		Soronegativos				
	N	%	N	%			
Tipo de exploração							
Corte	55	37,9	90	62,1	145	0,7	0,266
Mista	61	45,2	74	54,8	135		
Uso de IA							
Sim	20	90,9	2	9,1	22	16,8	1,000
Não	96	37,2	162	62,8	258		
Aluguel de pastos							
Sim	7	23,3	23	76,7	30	0,3	0,05
Não	109	43,6	141	56,4	247		
Assistência veterinária							
Sim	10	76,9	3	23,1	13	5,6	0,017*
Não	106	39,7	161	60,3	267		

*Diferença significativa

A variável exploração mista foi fator de proteção para a infecção (45,2%) e não foi verificada diferença significativa entre essa variável. (OR=0,7). O uso de inseminação artificial foi de 90,9% nas propriedades e não foi observada associação entre essa variável e a presença da *Leptospira spp.*($p>0,05$). A variável aluguel de pastos foi fator de proteção (43,6%) para as propriedades que não utilizavam essa prática (OR= 0,3) diminuindo as chances de infecção do rebanho. Em relação à assistência veterinária, verificou-se frequência mais elevada (76,9%) nas propriedades que tinham assistência de um técnico, em contrapartida, o número de propriedades que possuíam assistência veterinária era bem menor das que não possuíam.

5.4 Comparação entre a frequência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp*

Das 10 amostras soropositivas para *Toxoplasma gondii*, sete (6,0%) foram soropositivas para *Leptospira spp.*, porém três (1,8%) amostras soropositivas para *Leptospira spp*, foram soronegativas para *T. gondii*, não sendo verificada associação significativa entre as duas infecções ($p<0,05$).

TABELA 15: Comparação entre a frequência de anticorpos contra *T. gondii* e *Leptospira spp* em amostras de bovinos da Baixada Maranhense-MA

<i>T. gondii</i>	Soropositivos		<i>Leptospira spp.</i> Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Soropositivos	7	6,0	3	1,8	10	3,3	0,1001 ⁽¹⁾
Soronegativos	109	94,0	161	98,2	270		
Total	116	100,0	164	100,0	280		

(1):Não houve associação significativa

5.4.1 Comparação entre a frequência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Leptospira spp*

Na tabela 16 encontra-se o estudo comparativo entre a frequência de anticorpos contra *N. caninum* e *Leptospira spp.*, observando-se que do total das 116 amostras soropositivas para *Leptospira spp.*, 18 (32,1%) também foram soropositivas para *N. caninum*, porém, das 38 (23,2%) amostras soropositivas para *N. caninum* também foram soronegativas para *Leptospira spp.*, não havendo associação significativa entre as duas infecções ($p < 0,05$).

Resultados semelhantes foram encontrados por Moreira et al., (2010), que ao estudar 53 animais sororreagentes para *N. caninum* e *Leptospira interrogans* em duas fazendas no interior de Goiás, verificaram que dentre os 34 animais sororreagentes para *L. interrogans* na Fazenda 1, dez (29,41%) também eram positivos para neosporose.

TABELA 16: Comparação entre a frequência de anticorpos contra *N.caninum* e *Leptospira spp* em amostras de bovinos da Baixada Maranhense-MA.

<i>N. caninum</i>	Soropositivos		Soronegativos		Total N	OR	P
	N	%	N	%			
Soropositivos	18	15,5	38	23,2	56	0,5	0,1 ⁽¹⁾
Soronegativos	98	84,5	126	76,8	224		
Total	116	100,0	164	100,0	280		

(1) :Não houve associação significativa

5.4.2 Comparação entre a frequência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*

Constatou-se que das 10 amostras soropositivas para *T. gondii*, apenas um (10%) foi soropositiva para *N. caninum*, porém 55 (20,4%) amostras soropositivas para *N. caninum*, foram soronegativas para *T. gondii*, não ficando constatada associação significativa entre as duas infecções. Resultados parecidos foram encontrados por Ogawa et al., (1999a) que observaram no Paraná em 385 amostras de soros bovinos, apenas três (0,78%) amostras

reagentes para *T. gondii*. Este resultado difere dos resultados encontrados por Costa et al., (2001), que ao estudar a presença de *N. caninum* e *T. gondii* em São Paulo e Minas Gerais encontrou uma frequência de 9% de animais soropositivos para os dois coccídios. A ocorrência simultânea de anticorpos contra ambos os coccídios na RIFI também foi relatada por Gondim et al.(1999). Os autores observaram que, das 63 vacas sororeagentes ao *N. caninum*, três (4,76%) foram sororreagentes ao *T. gondii*.

TABELA 17: Comparação entre a frequência de anticorpos contra *N.caninum* e *T. gondii* em amostras de bovinos da Baixada Maranhense-MA

<i>N. caninum</i>	Soropositivos		<i>T. gondii</i>		Total N	OR	P
	N	%	Soronegativos N	%			
Soropositivos	1	10,0	55	20,4	56	0,4	0,6 ⁽¹⁾
Soronegativos	9	90,0	215	79,6	224		
Total	10	100,0	270	100,0	280		

(1): Não houve associação significativa

6. CONCLUSÕES

A partir deste estudo, chegou-se às seguintes conclusões:

Neospora caninum, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp.* encontram-se presentes na região da Baixada Maranhense ;

As variáveis raça, idade e presença de outras espécies foram associados ao *N.caninum*;

As variáveis sexo, idade, presença de outras espécies, histórico de abortamento, tipo de exploração, uso de inseminação artificial e aluguel de pasto foram fatores de risco para o *T. gondii*;

As variáveis sexo, idade, presença de outras espécies, histórico de abortamento, compra de machos e fêmeas, uso de inseminação artificial e assistência veterinária foram fatores de risco para *Leptospira spp.*

Para que se estabeleça um programa de controle da neosporose, toxoplasmose e leptospirose é preciso que se avaliem os prejuízos causados à pecuária brasileira, fazendo-se necessário o conhecimento da real situação epidemiológica dessas enfermidades no País.

Não houve associação entre os três agentes estudados.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Faz-se necessário um planejamento de sanidade animal na cadeia de produção dos bovinos, e da conscientização dos produtores para as formas de controle destas enfermidades; e um empenho maior dos gestores, políticos e autoridades competentes, bem como um envolvimento das universidades e um incentivo maior com as mídias como co- participantes no processo de desenvolvimento social

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedadpiroses transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3ed. Washington: Publicação científica, 503. Panamericana de la salud, 2001, v.1, 398 p.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; RODRIGUES, A. A. R.; et al.,2006. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Vet Parasitol**, 142:71-77.

AHMED, N.; DEVI, S. M.; VALVERDE, M.; et al., Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospiras* species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, n. 28, 2006. Do: 10.1186/1476-0711-5-28. Disponível em: <http://www.ann.clinmicrob.com/contents/5/1/28>. Acesso em 10 fev. 2011.

ALMEIDA, L. P. Epidemiologia da leptospirose: fontes de infecção e vias de transmissão. **Cadernos Didáticos 61 UFV**, Viçosa, 1999. 32 p.

ALVES, C. J.; VASCONCELOS, S. A.; NAVARRO, I. T.; et al., Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Toxoplasma* em soros de caprinos de cinco centros de criação do nordeste do Brasil. **Rev Bras Cien Vet**, v.4, n 2, 75-77 1997.

AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E.A. S.; LEVI, G. C.; et al., **Toxoplasmose**, 4. Ed. São Paulo, Savier, 1995, 154 p.

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C., et al. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **J Am Vet Med Assoc**, v. 1998, p.241-244, 1991.

ANDERSON, M. L.; ADRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Anim Reprod Scien**, v. 60-61, n. 1, p. 417-431, 2000.

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R. D.; PIRES, P. P. et al., 2004. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, Center-Wester Region, Brazil. **Rev Bras Parasit Vet** 13(3):129-131.

BARR, B. C.; ANDERSON. M. L.; WOODS, L. W.; et al., *Neospora*-like protozoal infections associated with abortions in goats. **J Vet Diagn Inv**, v.4, p.365 – 367, 1992.

BASZLER, T. V.; KNOWLES, D. P.; DUBEY, J. P.; et al., Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. **J Clin Microbiol**, v. 34:1423–1428, 1996.

BELO, M. A. A.; REZENDE, P. C. B.; SOUZA, L. M. et al., 1999. Presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos com histórico de abortos não diagnosticados etiologicamente. **Anais** do 11º Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Salvador, BA, p.228. (Resumo)

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cystforming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Z. Parasitenk.**, v. 70, p.271-274, 1984.

BJORKMAN, C.; LUNDEN, A.; HOLMDAHL, J.; et al., *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by Elisa using an iscom antigen. **Parasite Immunol.** Dec; 16 (12): 643-8. 1994.

BJORKMAN, C.; HOLMDAHL, O. J.; UGGLA, A. An Indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. **Vet Parasitol**, Feb; 68 (3): 251-60. 1997.

BOLIN, C. A.; ALT, D. P. Clinical signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. **Bov Pract**, v.33, p. 50-55, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde. **Manual de leptospirose**. 2. ed. Brasília, 1995. 98 p.

CALDAS, E. M.; TISHCENKO, L. M.; PEREIRA FILHO, M., et al. Aglutininas anti- *Leptospira* em hemo-soros de animais. **Arq EMV-UFBa**, v.2, n.1, p.83-98, 1977.

CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Rev Bras Patol Clin**, Rio de Janeiro, v. 10, p. 143-169, 1974.

CAMPOS Jr., A. C. P.; FRENEAU, G. E. Sorologia positiva para *Leptospira* em rebanhos nos Municípios de Inhumas e Palmeiras- GO. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, Campo Grande, 1996. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Matogrossense do Sul de Medicina Veterinária. 1996. p.288.

CASSOL, D. M. S.; PRETTE, N.; GOMIDE, L. W.; et al., 2005. Pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e humanos da região nordeste do Estado de São Paulo. **Hora Vet.** 25(145):23-27.

CARINI, A. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. **Bull Soc Pathol Exot**, v. 4, p. 518-519, 1911.

CHHABRA, M. B.; GUPTA, S. L.; GAUTAM, O. P. *Toxoplasma* seroprevalence in animals in Northern India. **Int J Zoon.**, v. 12, p. 136- 142, 1985.

CLEMENTINO, M. M.; SOUZA, M. F.; ANDRADE NETO, V. F. Soroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brasil. **Vet Parasitol**, v. 146, p. 199-203, 2007.

COLEMAN, T. J. The public health laboratory service (PHLS) and its role in the control of zoonotic disease. **Acta Tropica**, v.76, n. 1, p. 71-75, 2000.

COLLERY, P. Neosporosis in domestic animals. **Irish Vet J**, Dublin,v.49,p.152-156, 1996.

CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; SVERLOW, K. W.; et al., In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. From aborted bovine fetuses. **Parasitol**. Apr; 106 (Pt 3): 239-49. 1993.

CORBELLINI, L. G., COLODEL, E. M., DRIEMEIER, D. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. **J Vet Diagn Invest.**, 13: 416-419, 2001.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F. E.; et al., 2002. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Vet Parasitol** 103(3):195-202.

CORDEIRO, F.; GUIDA, H. G.; RAMOS, A. A., et al. Aglutininas antileptospira em soro de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. **Pesq Agrop Bras Série Vet**, v.10, p.9-19, 1975.

CORREA, W. M.; CORREA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**, São Paulo: Varela, 823 p, 1991.

CÔRTEZ, J. A. **Epidemiologia**: conceitos e princípios fundamentais. São Paulo: Varela, 1993, 227 p.

COSTA, A. J. et al. Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. **J Parasitol**, v. 63, n. 2, p. 212-18, 1977a.

COSTA, A. J. et al. Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. **J Parasitol**, v. 63, n. 2, p. 212-14, 1977b.

COSTA, A. J. & COSTA, E. P. Frequência de bovinos reagentes à Reação de Imunofluorescência Indireta para *Toxoplasma gondii* em poços de Caldas, MG, Brasil. **Arq Esc Vet UFMG**, v.30, n. 1, p. 47-51, 1978.

COSTA, A. J.; ÁVILA, F. A.; KASAI, N., et al. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos do município de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v. 45, n.4, p. 299-302, 1978 a.

COSTA, A. J.; LUCAS, A.; MORAES, F. R.; et al. Contribuição ao estudo da toxoplasmose canina. **Biol**, v. 44, p.293-297, 1978 b.

COSTA, A. J. Toxoplasmose em ruminantes domésticos. IN: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VAETERINÁRIA, 2., 1980, Ceará. **Anais...** Fortaleza: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária. 1980. P. 145-97.

COSTA, G. H. N.; CABRAL, D. G.; VARANDAS, P. N.; et al. 2001. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Semin Cien Agr**, 22(1):61-66.

DA SILVA, A. V.; CULOTO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da Reação de Imunofluorescência Indireta e do Método de Aglutinação Direta na detecção de anticorpos anti- *Toxoplasma* em soro de ovino, caprino e felino. **Arq I B**, v.69, n.1, p.7-11, 2002.

DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T.; et al. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Cien Rur**, v. 34, n. 4, p.1133-1137, 2004.

DAVISON, H.; OTTER, A.; TREES A. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cat le. **Int J Parasitol** v. 29, p. 1683-89, 1999.

DIJKSTRA, T.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; et al. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **Int J Parasitol**, v. 8, n. 8, p. 747-752, 2001a.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; et al. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **Int J Parasitol**, v. 31, p. 209-215, 2001 b.

DIJKSTRA, T. Horizontal and vertical transmission of *Neospora caninum*. PhD **Thesis**, Univ. Utrecht, the Netherlands. 1-140, 2002.

DÓRIA, J. D.; SANTANA, E. C. Leptospirose IV: Aglutininas anti- *Leptospira* em soros bovinos no Estado da Bahia. **Arq EMV-UFBa**, v.1, n.1, p.74-79, 1976.

DÓRIA, J. D.; VIEGAS, S. A. R. A.; VIEGAS, E. A., et al. Investigação sorológica de doenças ligadas à esfera reprodutiva em bovinos, no Estado da Bahia, 1976. **Arq EMV-UFBa**, v.7, n.1, p.97-104, 1982.

DUBEY, J.P.; MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **J Exp Med**, v. 132, n. 4, p.636-662, 1970.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst – induced toxoplasmosis in cats. **J Protoz**, v. 19, n. 1, p. 155-177, 1972.

DUBEY, J.P. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocyst. **Vet Parasitol**, v.13, n. 199-201, 1983.

DUBEY, J. P.; BRAKE, R. J.; MURREL, K. D.; et al. Effect of irradiation on the viability of *Toxoplasma gondii* cysts in tissues of mice and pigs. **Am J Vet Res**, v.47, n. 3, p. 518-522, 1986.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. Toxoplasmosis of Animals and Man. Boca Raton: **CRC Press, Inc.**, 1988.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A., et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **J Am Vet Med Assoc**. May 1;192 (9): 1269-85. 1988 a.

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S., et al. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs : isolation of the causative agent and experimental transmission. **J am vet med assoc**. Nov 15; 193 (10): 1259-63. 1988 b.

DUBEY, J. P.; PORTERFIEDL, M. L. *Neospora caninum* (*Apicomplexa*) in an aborted equine fetus. **J parasitol**. Oct; 76 (5): 732-4.1990.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis. **Parasitol Tod**, v.9, p.452-458, 1993.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **J Am Vet Med Ass**, v. 2005, n. 11, p. 1593-1598, 1994.

DUBEY, J. P. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for rats. **J Parasitol**, v.82, p. 951-956, 1996.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Vet Parasitol**, 67: 1-59,1996.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cyst. **Clin Microb Rev**, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J, P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Vet Parasitol** 84: 349-367,1999.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R., et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **Int J Parasitol**, 32: 929-946, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Kor J Parasitol**, 41, p.1-16, 2003.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis- a waterborne zoonosis. **Vet Parasitol**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **J Pathol**, 134, p.267-289, 2006.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Vet Clin Nor Am: Food Animal Practice**, v.10, p. 463-478, 1994.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Vet Clin Nor Am: Food Animal Practice**, v.10, p. 463-478, 1998.

FAINE, S. **Guidelines for the controlo of leptospirosis**. Geneva: world health, organization, 1982, 171 p. (Who off set publication, 67).

FAINE, S.; ADLER, B. ; BOLIN, C. et al. *Leptospira* and leptospirosis . 2 nd. Ed. Melbourne: MedSci, 1999. 272 p.

FARIA, E. B.; GENNARI, S. M.; PENA, H. F. J., et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti- *Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Vet Parasitol**, v. 149, p. 126-129, 2007.

FAVERO, M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A., et al. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arq I B**, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

FERREIRA, A. M. Manejo Reprodutivo e sua importância na eficiência da atividade leiteira. Coronel Pacheco – MG, Embrapa – CNPGL, 1991. p.47 (Embrapa – CNPGL, Documento 46).

FIALHO, B. G. & ARAÚJO, F. A. P. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da Grande Porto Alegre-RS, Brasil. **Cien Rur**, v. 33, n. 5, p. 893- 897, 2003.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A., et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti- *Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Vet Parasitol**, Amsterdam, v. 123, p. 161–166, 2004.

FREITAS, D. C.; LACERDA, J.R.; VEIGA, J. S., et al. Identificação da leptospirose bovina no Brasil. **Rev Fac Med Vet Zoot USP**, v.6, n. 1, p.81-83, 1957.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Scien**, v. 167, p. 893-896, 1970.

GARCIA, J. R.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L., et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Cien Rur**, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999.

GARCIA, J. R.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O., et al. *Toxoplasma gondii*: comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. **Exp Parasitol**, v. 13, n. 2, June 2006, pages 100-105, 2006.

GENNARI, S. M. *Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa. **Rev Bras Parasitol Vet**, v. 13, p. 23-28, 2004.

GEPLAN 2002. Atlas do Maranhão. Laboratório de Geoprocessamento, Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico, UEMA. Geplan, São Luís. 44p.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F., HASEGAWA, M., et al. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Vet Parasitol**, 86:71-75.

GONDIM, L. F. P., GAO, L., MCALLISTER, M. M. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. **J Parasitol**, 88: 1159-1163, 2002.

GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; SOZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P., et al. 2004. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Vet Parasitol**, 124:1-8.

HASEGAWA, M. Y.; SARTOR, I. F.; GONDIM, L.F.P. et al. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas de corte na região de Avaré, SP. Resultados preliminares. In: SEMINARIA BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA 11., 1999, Salvador-BA. Anais... Salvador, 1999, p. 227 (Resumo).

HASHEMI-FESHARKI, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. **Vet Parasitol**, v. 61, n. 1-2, p. 1-3, 1996.

HIRAMOTO, R. M. et al. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. **Rev Saúde Pública**, v. 35, n.2, p.113-118, 2001.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAIS, Z. M., et al. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Ver Soc Bras Med Trop**, v. 34, n. 2, p. 173-180, 2001.

HOUERSDORF & HOLTZ apud MAYER, H. Investigacione sobre toxoplasmosse. **Bol Of San Panam**. Washington. V. 58, n. 6, p.486, 1965.

HUTCHISON, W. M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. **Nat**, v. 2006, p. 961-962, 1965.

IBGE. 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo Agropecuário. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/> Acesso em 11jan. 2011.

IBGE. 2009. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo Agropecuário. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/> Acesso em 23 fev. 2011.

INADA, R.; IDO, Y.; HOKI, R., et al. The Etiology, Mode of Infection, and Specific Therapy of Weil's Disease (*Spirochatoxis Icterohaemorrhagica*), **J Exp Me.**, 1916, xxiii, 377.

JARDIM, E. C.; SILVA, R. L.; ALMEIDA, M. M. R., et al. Aglutininas anti-*Leptospira* em bovinos do Estado de Goiás, **Anais da EMV-UFG**, 1978. n.p.

JESUS, E. E. V., et al. Frequência de anticorpos contra *Neospora caninum* em cervídeos (*Blastocerus dichotomus*) do Mato Grosso do Sul, Brasil. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28, 2001, Bahia, **Resumos** ...Salvador: Sociedade Baiana de Medicina Veterinária, 2001, p. 189.

JULIANO, R. S., et al. Prevalence and epidemiology aspects of bovine leptospirosis in dairy herd from goiânia microregion, Goiás state, Brazil. **Cien Rur**, v. 30, n. 5, 2000

LALLY, N. C., JENKINS, M. C., DUBEY, J. P. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. **Clin Diagn Lab Immunol**. May; 3 (3): 275-9. 1996.

LANGONI, H. **Introdução as Zoonoses**. Apostila da Disciplina de Zoonoses da UNESP-Botucatu. São Paulo. 1996. 30p.

LAPPIN, M. R. Infecções protozoárias e mistas. IN: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Trat Med Int Vet**: doenças do cão e do gato, 5 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 433-35.

LINDSTRÖM, I.; KADDU-MULINDWA, D. H.; KIRONDE, F.; LINDH, J. Prevalence of latent and reactivated *Toxoplasma gondii* parasites in HIV-patients from Uganda. **Acta Trop**, v. 100, p.218-22, 2006.

LILENBAUM, W. Atualização em leptospiroses bovinas. **Rev Bras Med Vet**, v.18, p. 9-13, 1996.

LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; DUBEY, J. P. Felini Toxoplasmosis and the importance of *Toxoplasma gondii* oocyst. **Comp Cont Educ Pract Vet**, v. 19, n. 4, p. 448-461, 1997.

LINDSAY et al. Confirmation of that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Vet Parasitol**, v.82, p.327-33, 1999.

LOPEZ, J. I. M., POQUET, N. D. Diagnóstico serológico de leptospirosis bovina en la VIII region of Chile. **Agr Cien**, v.6, n.1, p.23-26, 1990.

LEITE, R. C. Manejo Sanitário dos Bovinos. In: I Simpósio de Manejo Sanitário e Reprodutivo de Bovinos **Anais...**, 83p, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, 2000.

LÜDER, C. G.; LANG, T.; BEUERLE, B.; GROSS, U. Down-regulation of MHC class II molecules and inability to up-regulate class I molecules in murine macrophages after infection with *Toxoplasma gondii*. **Clin Experim Immun**, v. 112, n. 2, p. 308-16, 1998.

MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Frequência de aglutininas anti-Leptospíricas em bovinos de corte na região sul de cerrado no Estado do Mato Grosso. **Arq Esc Vet UFMG**, v.32, p. 245-49, 1980.

MARANA, M. R. E., et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do norte do Paraná-:Brasil. **Semina Ci Agr**, v.15, n. 1, p. 38-40, 1994.

MARTINELLI, T. M.; STOBBE, N. S. Avaliação da frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de corte da região de Araçatuba, SP. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28, 2001, São Paulo. **Resumos...** Araçatuba: Sociedade Baiana de Medicina Veterinária, 2001, p. 189.

McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S., et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **Int J Parasit**, v.28, p.1473-1478, 1998.

McALLISTER, M. M.; WALLACE, R. L.; BJÖRKMAN, C., et al. A probable source of *Neospora caninum* infection in an abortion outbreak in dairy cows. **Bovine Pract**. 39:69-74, 2005.

MAINAR-JAIME, R.C.; THURMOND, M.C.; BERZALHERRANZ, B., et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. **Vet Rec**, London, v. 145, p. 72-75, 1999.

MELLO, U. Um cas de toxoplasmose du chien observe à Turin. **Bull Soc Pathol Exot**, v.3, p. 359-363,1910.

MELO, C. B. *Neospora caninum* em Minas Gerais – aspectos epidemiológicos. 2001. 131p, **Tese** (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MILLER, N. L. FRENKEL, I. K.; DUBEY, J. P. Oral Infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals and birds. **J Parasitol**, v. 58, p. 928- 937, 1972.

MINEIRO, A. L. B. B.; BEZERRA, E. E. A.; VASCONCELLOS, S. A., et al. Infecção por *Leptospira* em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arq Bras Med Vet Zoot**, v. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.

MINERVINO, A. H. H.; RAGOZO, M. A.; MONTEIRO, R. M., et al. 2008. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Res Vet Sc**, 84:1:254-256.

MONTOYA, J. G. & LIENSENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**. v. 363, p. 1965-1976, 2004.

MOORE, D. P. Neosporosis in South America. **Vet Parasitol**, v. 127, n. 2, p. 87-97, 2005.

MOREIRA, R. Q.; CABRAL, D. D.; LIMA, A. M. C., et al. Soroprevalência de anticorpos anti-*neospora caninum* e anti-*leptospira interrogans* em duas propriedades de vacas leiteiras com relatos de prejuízos reprodutivos no município de Goiandira, Goiás. **Cien Anim Bras**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 396-401, abr./jun. 2010.

MUNHOZ, A. D. 2004. Distribuição infecção por *Neospora caninum* em rebanhos bovinos dos municípios de Rio Claro e Resende, estado do Rio de Janeiro. **Tese** de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 98p.

MYERS, D. M. **Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de La leptospirosis**. Martinez: OPAS, Centro Panamericano de Zoonosis, 1985.

NICOLLE, M. M. C.; MANCEAUX, L. Sur une infection a corps de Leishman (ou organisms voisins) du gondi. **Comp Rend Hebdom Sean Acad Scienc**, Paris, v. 147, p. 763-766, 1908.

NOGUCHI, H. The survival of *Leptospira (Spirochaeta) icterohaemorrhagiae* in nature: Observations concerning microchemical reactions and intermediary hosts. **J Exp Med**, v. 27, p. 609-625, 1918.

OGAWA, L.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L. F. P., et al. 2005. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná, Brazil. **Arq Bras Med Vet Zootec**, 57(3):312-316.

OGAWA, L.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O., et al. Avaliação sorológica de *Toxoplasma gondii* em bovinos de leite na região do norte do Paraná. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros da região nordeste do estado de São Paulo, Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 11., 1999 a, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, Bahia, 1999, p.225.

OGAWA, L., et al. Monitoramento sorológico do *Neospora caninum* em vacas leiteiras após abortamento, em Londrina-Paraná e região. IN: SEMINÁRIO BRASILEIRO D PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999. Bahia. **Anais...** Salvador, Bahia, 1999 b, p.225.

OLIVEIRA, S.J. Presença de aglutininas antileptospiras em suínos e bovinos, com e sem sinais de infecção, no Rio Grande do Sul. Bol. IPVDF, v.4, p. 57-64, 1977.

OLIVEIRA, A. A. F. Soroprevalência da leptospirose em bovinos leiteiros no município de Garanhuns-PE. Recife: UFRPE, 1999. 34p. **Dissertação** Mestrado.

OSAWA, T.; WASTLING, J.; MALEY, S., et al. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora* specific antibodies in bovine sera, bovine fetal fluids, ovine and caprine sera. **Vet Parasitol**, v. 79, n. 1, p. 19-34, 1998.

PACKHAM, A. E.; SVERLOW, K.W.; CONRAD, P.A. et al. (1998). A modified agglutination test for *Neospora caninum*: Development, optimization and comparison to the indirect fluorescent antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. **Clin Diagn Lab Immun.** 5: 467-473.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. **J Vet Diag Invest**, v. 7, n. 2, p. 273-275, 1995.

PATITUCCI, A. N.; PEREZ, M. J.; LUDERS, C. F., et al. Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en rebaños lecheros del Sur de Chile. **Arc Med Vet**, v. 31, n. 2, p. 215-218, 1999.

PELLEGRIN, A. O. ; GUIMARÃES, P. H. S.; SERENO, J. R. B., et al. Prevalência da Leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. Embrapa Pantanal. **Comun Téc**, n.22, p 1-9, nov. 1999.

PESCADOR, C. A.; CORBELLINI, L. G.; OLIVEIRA, E. C.; RAYMUNDO, D. L. & DRIEMEIER, D. 2007. Histopathological and immunohistochemical aspects of

Neospora caninum diagnosis in bovine aborted fetuses. **Vet Parasitol**, 150:159-163.

PETERS, M.; LUTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **Int J Parasitol**, 31: 1144-1148, 2001 a.

PITA GONDIM, L.F. et al. *Neospora caninum* infection in a aborted bovine foetus in Brazil. **New Zealand Vet J**, n. 47, p. 35, 1999.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. **Mic Infec**, v. 2, p. 1265-1276, 2000.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER G.R. **Clin Vet Mic**. 1ed. Spain: Grafos, 1994, p. 292-303.

RAGOZO, A. M .A.; PAULA, V. S. O.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P. & GENNARI, S. M. 2003. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revta Bras Parasit Vet**, 12(1):33-37.

REMYINGTON, J. S.; MCLEOD, R.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: REMINGTON, J. S.; KLEIN, J. O. eds. **Infectious diseases of the fetus & newborn infant**. 4^a ed. Philadelphia: WB Saunders, 140-167, 1995.

REZENDE, P. C. B. et al. Frequência de anticorpos anti- *Neospora caninum* e anti -*Toxoplasma gondii* em cães do município de Jaboticabal, SP, Brasil. IN: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999. Salvador – BA. **Anais** ... Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p.229.

RIET-CORREA, F. ; SCHILD, A.L. ; MÉNDEZ, M.C. ; LEMOS,R.A.A. Doenças de Ruminantes e Equinos. São Paulo, v.2, 574 p. 2001.

ROMAND, S.; THULLIEZ, P. & DUBEY, J.P. 1998. Direct agglutination test for serologic diagnose of *Neospora caninum*. **Parasitol. Res**. 84: 50-53.

RORMAN, E.; ZAMIN, C. S.; RILKIS, I.; BEN-DAVID, H. Congenital Toxoplasmosis- prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. **Repr Tox**, v.21, n. 4, p. 458-472, 2006.

SAMPAIO, I. B. M. 2007. Estatística aplicada à experimentação animal. 3^a ed. FEPMVZ, Belo Horizonte. 264p.

SANGER, V. L.; CHAMBERLAIN, D. M.; CHAMBERLAIN, K. W.; COLE, C.R.; FARRIL, R. L. Toxoplasmosis. V. Isolation of Toxoplasma from cattle. **J Am Vet Med Assoc**, v.123, p. 87-91, 1953.

SANTA ROSA, C. A.; CASTRO, A. F. P.; TROISE, C. Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de bovino em São Paulo. **Arq IBSP**, v.28, p.113-118, 1961.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; GIORGI, W.; DA SILVA, A. S.; YANAGUITA, R. M.; LOBAO, A. O. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in the pyrogenes group. **Am J Vet Res**, 36:1363-1365, 1975.

SANTA ROSA C. A, LACAZ C. S, MACHADO P. A, YANAGUITA R. M, CASTRILLÓN A. L, FERRARONI J. J, FONSECA O.J.M. Leptospirose no Estado do Amazonas: inquérito sorológico. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo 22:265-268, 1980.

SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M. Y.; GONDIM, L. F. P. et al. Prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros no município de Avaré, SP. Resultados preliminares. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., 1999. Salvador-BA. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p.225.

SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M. Y.; CANAVESSI, A. M. O. et al. 2003. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliadas pelos métodos de Elisa e RIFI no município de Avaré, SP. **Semina Cien Agr**, 24(1):3-10.

SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; et al. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **J Vet Med Scien**, v.60, p.853-854, 1998.

SCHARES, G. et al. Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis. **Int J Parasitol**, v. 30, n. 10, p. 1123-1130, 2000.

SHARIF, M.; GHOLAMI, S. H.; ZIAEI, H. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. **Vet J**, v. 174, p. 422-424, 2007.

SCHMIDT, V.; AROSI, A.; SANTOS, A. R. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. **Cien Rur**, v. 32, n. 4, p. 609-612, 2002.

SIKES, R. K. Toxoplasmosis. **J Am Vet Med Assoc**, v. 180, n. 8, p. 857-859, 1982.

SILVA, M. I. S.; ALVES, L. C. A.; FAUSTINO, M. A. G., et al. 2002. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá, Pernambuco. **Anais** 12^o Congr. Bras. Parasitol. Vet., Rio de Janeiro, RJ. (CD-Rom)

SILVA, M. I. S. et al. Freqüência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em soros de cães do município de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 18. Rio de Janeiro. **Anais** ... Rio de Janeiro, 2003.

SOUZA, L. M. Neosporose e toxoplasmose bubalina: estudo da situação sorológica em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo. 2001.69f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade estadual paulista, Jaboticabal, 2001.

SOUZA, S. L. P.; GUIMARÃES, J. S.; FERREIRA, F.; et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães de propriedades produtoras de leite B da região norte do estado do Paraná. **J Bras Pat**, v.37, n.4, p.40, 2001.

SPLENDRE, A. Un nuovo protozoa parassita de'conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il kala-azae dell'uno. Nota preliminare. **Rev Soc Scien**, São Paulo, v. 3, p. 109-112, 1908.

STEELE, J. H., MILDRED, M. P. H., GALTON, M. et al. Leptospirosis as a world problem. **Vet Med**, v.3, n.11, p.517-527, 1957.

STOBBE, N. S. 1999. Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e a ocorrência de abortamentos em bovinos no noroeste do estado de São Paulo, Brasil. **Tese** de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP. 44p.

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

SWANGO, L. J. BANKEMPER, K. W. ; KONG, L.I. Bacterial, rickettsial, protozoal and miscellaneous infections. In: ETTINGER, S. J. (ed.), **Text Vet Int Med**, 3 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1989. P. 265-297.

TEIXEIRA, W. C.; PEREIRA, J. G. & SILVA, M. I. S. 2005. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos bovinos leiteiros da Ilha de São Luís, MA. **Anais** 17^o Seminário de Iniciação Científica/UEMA, São Luís, MA, p.41-43. (CD-Rom)

TEIXEIRA, W. C., et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em

três microrregiões no Estado do Maranhão. **Pesq Vet Bras.** 30(9):729-734, setembro 2010.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int J Parasit**, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.

THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. **J Vet Diagn Invest**, Jul; 1 (3): 205-9. 1989.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Effect of congenitally acquired *N. caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. **Am J Vet Res**, v. 58, n. 12, p.1381-85, 1997.

TOMICH, R. G. P.; BOMFIM, M. R. Q.; KOURY, M. C.; Leptospirosis Serosurvey in bovines from Brazilian Pantanal using igG Elisa with recombinant protein LipL32 and microscopic agglutination test. **Bra J Micr**, v. 38, p. 674-680, 2007.

VASCONCELOS, S. A. Leptospirose Bovina. In: **Anais** do II Simpósio PFIZER sobre Doenças Infecciosas e Vacinas para Bovinos. Caxambu, 1997, 34-38p.

VIEGAS, S. A. R. A.; DÓRIA, J. D.; ROCHA, J. V. N., *et al.* Aglutininas antileptospiras em soro de bovinos no Estado da Bahia. **Arq EMV-UFBa**, v.10, n.1, p.3-13, 1986.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: Epidemiologia e importância da doença na saúde animal. **Sem Cien Agr Londrina** 1992; 13 (1): 69-75.

VOGEL, F. S. F.; ARENHART, S. & BAUERMANN, F. V. 2006. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Cien Rur**, 36(6):1948-1951.

WOODS, L.W.; ANDERSON, M.L.; SWIFT, P. K.; SVERLOW, K. W. Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). **J Vet Diagn Invest**, Oct; 6(4): 508-10. 1994.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **AIDS**, v. 7, n. 3, p. 299-316, 1993.

WOUDA, W.; DJIKSTRA, T. H.; KRAMER, A. M. H., *et al.*(1999). Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infection in dogs and cattle. **Int J Parasitol.** 29: 1677-1682.

APÊNDICE

OCORRÊNCIA DE *NEOSPORA CANINUM*, *TOXOPLASMA GONDII* E *LEPTOSPIRA SPP* EM SOROS DE BOVINOS DA REGIÃO DA BAIXADA MARANHENSE- MA, BRASIL

Município: _____ U.F.: _____

Proprietário: _____

Propriedade: _____

1. Tipo de exploração:

Corte Leite Mista

2. Tipo de Criação:

Confinado Semi-confinado Extensivo

3. Usa Inseminação artificial?

Não Usa IA e touro Usa só IA

4. Raça predominante:

Zebu Mestiço

5. Outras espécies na propriedade:

Ovinos/caprinos Equídeos Suínos Aves Cão
 gato

6. Alguma vaca abortou nos últimos 12 meses?

Sim Não

7. Compra fêmeas ou machos com finalidade de reprodução?

Sim Não

8. Aluga pastos em alguma época do ano?

Sim Não

9. Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso?

Sim Não

10. Tem assistência veterinária?

Sim Não

