

DANIELA PONTES CHIEBAO

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em bovinos do Estado do Pará: estudo de possíveis variáveis para ocorrência de infecção

São Paulo
2010

DANIELA PONTES CHIEBAO

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em bovinos do Estado do Pará: estudo de possíveis variáveis para ocorrência de infecção

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares

São Paulo
2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2327
FMVZ

Chiebao, Daniela Pontes

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em bovinos do Estado do Pará: estudo de possíveis variáveis para ocorrência de infecção / Daniela Pontes Chiebao. -- 2010. 109 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares.

1. Epidemiologia. 2. Neosporose. 3. Brucelose. 4. Leptospirose. 5. Amazônia. I. Título.

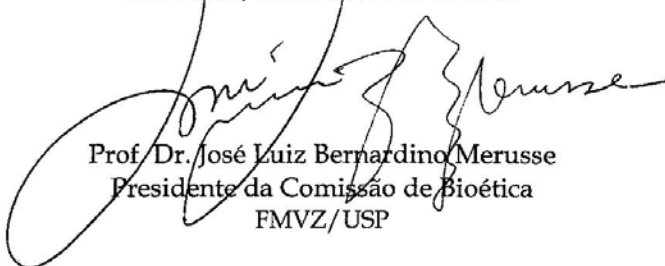


CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Soroprevalência de anticorpos *anti-Neospora caninum*, *anti-Brucella abortus* e *anti-Leptospira interrogans* em bovinos do estado do Pará: estudo de possíveis fatores de risco para a infecção", protocolado sob o nº1431/2008, utilizando 3000 (três mil) bovinos (coleta de sangue), sob a responsabilidade do Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 01/10/08.

We certify that the Research "Soroprevalence of antibodies *anti-Neospora caninum*, *anti-Brucella abortus* and *anti-Leptospira interrogans* of cattle from Para State: study of possible risk factors for infection", utilizing 3000 (tree thousand) bovine, protocol number 1431/2008, under the responsibility Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/01/08.

São Paulo, 02 de outubro de 2008



Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CHIEBAO, Daniela Pontes

Título: Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em bovinos do Estado do Pará: estudo de possíveis variáveis para ocorrência de infecção

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho à minha querida família:

Meus pais,
Erlí e Sonia

Minhas irmãs,
Fernanda e Helena,
Lili, Fiô, Si, Viri, Ju, Xi
Bis, Bib, Fri, Tiones, Krus

Amo vocês...

AGRADECIMENTOS

À colega Samantha Yuri Oshiro Branco Valadas, mais nova melhor amiga, pela realização das RIFIs e ajuda em todas as etapas do mestrado, com excepcional competência e entusiasmo.

Ao colega Antônio Humberto Hammad Minervino, pelo delineamento experimental da parte de *Neospora caninum* e pelas coletas de amostras no Estado do Pará.

Ao professor e amigo Ricardo Augusto Dias que realizou a análise estatística, moldando o trabalho e sendo sempre muito prestativo, sua ajuda e apoio foram imprescindíveis.

À colega e amiga Vanessa Castro, do Instituto Biológico, pelos valiosos ensinamentos e supervisão na realização dos exames sorológicos para diagnóstico de *Leptospira* spp.

À colega e amiga Adriana Hellmeister de Campos Nogueira, do Instituto Biológico, por colaborar na elaboração da dissertação e nas análises sorológicas para *Brucella abortus*, seu incentivo foi essencial para a realização deste trabalho.

À professora Solange Maria Gennari e aos funcionários do Laboratório de Doenças Parasitárias do VPS, Hilda, Renato e Pedro, pela amizade e por todo o auxílio na parte laboratorial.

À pesquisadora Margareth Elide Genovez, que gentilmente disponibilizou seus conhecimentos, assim como o Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico, para realização desta pesquisa.

Às amigas e colegas que me acolheram no LDBR, Eliana, Lília, Maristela, Rosa, Rosana, Aline, Márcia, Antera, Maria e o único XY, Igor, pelo apoio e momentos de descontração.

Às funcionárias do Laboratório de Zoonoses Bacterianas do VPS, Zenaide e Giselle, pela eficiência e ajuda na manutenção das leptospiros.

Às amigas e colegas de pós-graduação, Estela, Eliana, Gisele, Juliana, Camila, Sheila, Cris, Iracema, Karen, Bianca, Mari, Lara, Aline e Vanessa, presentes em todos os momentos, mostrando que as mulheres já dominam o mundo.

Aos amigos Frederico, Hebert, Sandro, Rodrigo e Leonardo, que provam a existência de meninos bons.

Aos amigos Daniel, Aline, Lara, Simone, Maurício e Fábio, ex-VPS, pessoas que tenho como exemplo a seguir, sempre dando apoio e carinho quando preciso.

À amiga Celina, pelo amor incondicional.

Aos colegas da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba, Eduardo, Wilson, Junia, Silvia, Margarida, Edson e Fábio, por acreditarem em meu trabalho.

À funcionária do VPS e amiga Jucélia de Jesus Pereira, pela confecção do mapa com os municípios do Estado do Pará.

Aos funcionários e amigos do VPS, Danival, Ana Virgínia, Maria Cristina e Tania, que sempre me ajudaram com muita competência e paciência.

Aos funcionários da biblioteca da FMVZ-USP, pelas correções na dissertação.

Ao Departamento de Descentralização do Desenvolvimento da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios por permitir o afastamento parcial das minhas atividades para realização da pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e concessão de bolsa de iniciação científica (processo 116444/2007-0) para execução do trabalho.

Aos proprietários rurais do Estado do Pará, que permitiram a coleta de amostras de seus animais.

RESUMO

CHIEBAO, D. P. **Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em bovinos do Estado do Pará: estudo de possíveis variáveis para ocorrência de infecção.** [Frequency of antibodies against *Neospora caninum*, *Brucella abortus* and *Leptospira* spp. in cattle from Pará State: a study of possible variables for occurrence of infection]. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Para relacionar possíveis variáveis para infecção pelos agentes *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* spp em rebanhos bovinos do Estado do Pará utilizando a frequência de anticorpos foram colhidas amostras de sangue de 3466 vacas provenientes de 176 propriedades, nas quais um questionário foi aplicado. A prova de RIFI foi utilizada para pesquisa de anticorpos anti-*N.caninum*; a prova de triagem do AAT seguida pela SAL e 2-ME como confirmatórias para pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus*; e o método de SAM para pesquisar anticorpos contra *Leptospira* spp., utilizando uma bateria de 22 antígenos. As análises estatísticas foram realizadas pelas provas do Qui-quadrado (X^2) e Mann-Whitney, com intervalo de confiança de 95%. A ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* spp. em bovinos foi de 14,7%, 3,7% e 65,5% em 87,4%, 41,3% e 98,8% das propriedades analisadas, respectivamente. O sorovar Hardjo foi o mais freqüente, seguido por Wolffi, Grippytyphosa e Hebdomadis, e o mais provável causador da infecção nos animais, seguido de Grippytyphosa, a associação Hardjo+Wolffi e a sorovariedade Wolffi. A presença de abortamentos foi associada à ocorrência de *N.caninum* ($p<0,05$), assim como a realização de inseminação artificial e o destino inadequado dos produtos de abortamento foram associados à ocorrência de anticorpos anti-*B. abortus* e a presença de cães, destino inadequado de vacas que abortaram e a inseminação artificial foram variáveis associadas à ocorrência das sorovariedades Hardjo, Grippytyphosa e Hebdomadis. Demonstrou-se a necessidade de um controle sanitário efetivo para neosporose e leptospirose e de mais estudos para determinar a causa da alta ocorrência do sorovar Grippytyphosa, que pode estar relacionada com a degradação ambiental.

Palavras-chave: Epidemiologia. Neosporose. Brucelose. Leptospirose. Amazônia.

ABSTRACT

CHIEBAO, D. P. **Frequency of antibodies against *Neospora caninum*, *Brucella abortus* and *Leptospira* spp. in cattle from Pará State: a study of possible variables for occurrence of infection.** [Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em bovinos do Estado do Pará: estudo de possíveis variáveis para ocorrência de infecção]. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Aiming for association of possible infection variables with antibodies frequency of the agents *N. caninum*, *B. abortus* and *Leptospira* spp., 3466 female cattle from 176 herds were examined and a inquiry was applied. IFAT was used for research of antibodies against *N. caninum*; serum samples were examined for *B. abortus* antibodies using TAA trial test and SAA plus 2-ME for confirmation; and antibodies against *Leptospira* spp. were searched using MAT, with a 22 antigens battery. Statistical analysis were performed using Chi-Square (X^2) and Mann-Whitney tests, with 95% confidence interval. Occurrence of antibodies against *N. caninum*, *B. abortus* and *Leptospira* spp. in cattle was 14,7%, 3,7% and 65,5% in 87,4%, 41,3% and 98,8% of analysed herds, respectively. Serovar Hardjo was the most frequent, followed by Wolffi, Grippotyphosa and Hebdomadis, and also most probable responsible for infection in animals, followed by Grippotyphosa, Hardjo+Wolffi association and serovar Wolffi. Occurrence of anti-*N. caninum* antibodies was associated with abortion presence ($p < 0,05$), as artificial insemination and inappropriate destination of abortion products were linked with frequency of antibodies against *B. abortus* and occurrence of antibodies anti-Hardjo, Grippotyphosa and Hebdomadis was associated with dog presence, inappropriate destination of aborting cows and artificial insemination. It was demonstrated lack of sanitary control for neosporosis and leptospirosis and also necessity for more studies to determine causes for serovar Grippotyphosa high occurrence, condition that may be related with environmental destruction.

Keywords: Epidemiology. Neosporosis. Brucellosis. Leptospirosis. Amazon.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 -	Relação das espécies de <i>Leptospira</i> , sorogrupos e sorovares que foram empregados como antígenos na reação de Soroaglutinação Microscópica, realizada sob a forma de microtécnica – São Paulo – 2010.....	50
Figura 1 -	Municípios do Estado do Pará com propriedades visitadas para colheita de amostras (em branco) – 2010.....	53
ANEXO A -	Questionário submetido às 176 propriedades visitadas no Estado do Pará – 2008.....	105
ANEXO B -	Interpretação dos testes de SAL e 2-ME para brucelose em fêmeas bovinas vacinadas e não vacinadas.....	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Ocorrência e prevalência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em bovinos oriundos de diversos estados brasileiros, utilizando a técnica SAM – São Paulo – 2010.....	29
Tabela 2 -	Ocorrência e prevalência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em bovinos oriundos de diversos estados brasileiros – São Paulo – 2010.....	34
Tabela 3 -	Prevalência de anticorpos anti- <i>Brucella abortus</i> em bovinos oriundos de diversos estados brasileiros – São Paulo – 2010.....	39
Tabela 4 -	Distribuição de propriedades segundo área e exploração técnica – Pará – 2008.....	54
Tabela 5 -	Número total de animais por município e propriedade testados para <i>N. caninum</i> , <i>B. abortus</i> e <i>Leptospira</i> spp., provenientes do Estado do Pará – 2008.....	58
Tabela 6 -	Distribuição da frequência de títulos de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em bovinos de 174 municípios do Estado do Pará – 2008...	65
Tabela 7 -	Distribuição da frequência de bovinos soropositivos para neosporose procedentes de 174 propriedades do Estado do Pará, segundo o tipo de exploração animal – 2008.....	65
Tabela 8 -	Distribuição da frequência de títulos de anticorpos anti- <i>Brucella abortus</i> em 142 bovinos soropositivos ao AAT provenientes de 172 propriedades do Estado do Pará, pelos testes de SAL e 2-ME – 2008.....	66
Tabela 9 -	Distribuição da frequência de bovinos soropositivos para brucelose procedentes de 172 propriedades do Estado do Pará, segundo o tipo de exploração animal – 2008.....	67
Tabela 10 -	Distribuição da frequência de títulos de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. por sorovarietades em bovinos de 171 propriedades rurais do Estado do Pará, pela técnica SAM – 2008.....	68
Tabela 11 -	Número e porcentagem dos sorovares de <i>Leptospira</i> spp. em 171 propriedades e prováveis sorovares responsáveis pela infecção em animais positivos pela técnica SAM – Pará – 2008.....	69
Tabela 12 -	Distribuição de frequência de bovinos soropositivos para leptospirose na técnica SAM procedentes de 171 propriedades do Estado do Pará, segundo exploração animal – 2008.....	71
Tabela 13 -	Análise de associação univariada das características das propriedades e presença de animais soropositivos na prova de RIFI para <i>N. caninum</i> – Pará – 2008.....	71
Tabela 14 -	Análise de associação univariada das características das propriedades e presença de animais soropositivos nas provas de SAL e 2-ME para <i>B. abortus</i> – Pará – 2008.....	73
Tabela 15 -	Análise de associação univariada das características das propriedades e presença de animais soropositivos na técnica de SAM para <i>Leptospira</i> spp. – Pará – 2008.....	75
Tabela 16 -	Análise de associação univariada da ocorrência dos agentes <i>N.</i>	

caninum, *B. abortus* e *Leptospira* spp. e seus principais sorovares (Hardjo, Wolffi, Grippotyphosa, Hebdomadis e Pomona) entre si nas propriedades analisadas dos municípios do Pará – 2008..... 77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAT	antígeno acidificado tamponado
ANUALPEC	anuário da pecuária brasileira
BA	Bahia
DF	Distrito Federal
ES	Espírito Santo
et al.	e colaboradores
GO	Goiás
IA	inseminação artificial
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	imunoglobulina tipo G
IgM	imunoglobulina tipo M
MG	Minas Gerais
MS	Mato Grosso do Sul
MT	Mato Grosso
N	número
OIE	Organização Mundial para Saúde Animal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pará
PBS	tampão fosfato
PCR	reação em cadeia pela polimerase
PE	Pernambuco
PNCTB	plano nacional de controle e erradicação da tuberculose, brucelose e encefalopatias espongiformes transmissíveis
PNEFA	plano nacional de erradicação da febre aftosa
PR	Paraná
RIFI	reação de imunofluorescência indireta
RJ	Rio de Janeiro
RO	Rondônia
r.p.m.	rotações por minuto

RS	Rio Grande do Sul
SAL	soroaglutinação lenta em tubos
SAM	soroaglutinação microscópica
SC	Santa Catarina
SNC	sistema nervoso central
SP	São Paulo
spp.	espécie
TO	Tocantins
2-ME	2-mercaptoetanol

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
/	divisão
≥	maior ou igual
Km ²	quilômetro quadrado
°C	graus Celsius
*	multiplicação
=	igual
-	menos
®	marca registrada
G	gravidade
mL	mililitros
x	vezes
μL	microlitro
:	para
pH	potencial hidrogeniônico
M	molar
Na	sódio
H	hidrogênio
P	fósforo
O	oxigênio
Cl	cloro
K	potássio
X ²	Qui-quadrado
ha	hectare
p	significância

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
3	REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1	<i>Leptospira</i> spp.....	22
3.2	<i>Neospora caninum</i>	30
3.3	<i>Brucella abortus</i>	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1	Área de estudo e amostragem.....	42
4.2	Cálculo da amostragem e colheita das amostras.....	42
4.3	Inquérito epidemiológico.....	44
4.4	Reações sorológicas.....	44
4.4.1	<i>Neospora caninum</i>	44
4.4.2	<i>Brucella abortus</i>	46
4.4.2.1	Soroaglutinação rápida em placa com antígeno acidificado tamponado (AAT), corado pelo Rosa Bengala.....	46
4.4.2.2	Soroaglutinação lenta em tubos (SAL).....	47
4.4.2.3	Soroaglutinação lenta em tubos com 2-mercaptoetanol (2-ME).....	47
4.4.3	<i>Leptospira</i> spp.....	48
4.5	Estatística.....	50
5	RESULTADOS	52
5.1	Descrição das propriedades e animais amostrados.....	52
5.2	Características gerais das propriedades e animais.....	56
5.3	Sorologia para <i>Neospora caninum</i>	57
5.4	Sorologia para <i>Brucella abortus</i>	66
5.5	Sorologia para <i>Leptospira</i> spp.....	67
5.6	Análise estatística univariada.....	71
5.6.1	<i>Neospora caninum</i>	71
5.6.2	<i>Brucella abortus</i>	73
5.6.3	<i>Leptospira</i> spp.....	75
5.7	Análise estatística bicaudal.....	78

6	DISCUSSÃO	79
7	CONCLUSÕES	89
	REFERÊNCIAS	90
	ANEXOS	105

1 INTRODUÇÃO

Segundo o Censo Agropecuário 2006 (IBGE, 2008), o Brasil conta com 169.900.049 cabeças de gado bovino em seu território sendo que aproximadamente 7,5% (12.807.706) desse efetivo se encontra no estado do Pará, localizado na região Amazônica, divididos em 82.651 propriedades. Esses números mostram que o total de animais no estado dobrou na última década, assim como a área em hectares utilizada para pastagens. O Pará é o estado com a maior importância em relação à atividade pecuária da região, pois apresenta o quinto maior rebanho bovino brasileiro, que vem crescendo cerca de 16% ao ano. A pecuária é a principal atividade econômica em 51% dos municípios paraenses e o abate anual de bovinos é de mais de 2,3 milhões de cabeças, além da comercialização de animais vivos para outros estados e para o exterior, que adquire 10% desta produção (ANUALPEC, 2009). O boi vivo é o carro chefe das exportações no estado, e em 2009 gerou uma receita de 423 milhões de dólares (AGÊNCIA PARÁ DE NOTÍCIAS, 2010).

Além do crescimento já estabelecido, o estado apresenta um grande potencial para o incremento da atividade pecuária, devido a sua vasta extensão territorial, já que se trata do segundo maior estado brasileiro, além de possuir condições climáticas favoráveis como alta insolação o ano inteiro, ausência de estação fria, altas temperaturas, alta pluviosidade e ausência de estiagens muito prolongadas. Tais características climáticas são propícias, pois permitem um excelente desempenho das gramíneas tropicais, principal fonte de alimento dos ruminantes (MINERVINO, 2004).

Esse crescimento não foi acompanhado, na mesma proporção, de ações voltadas para a implementação de medidas de manutenção da saúde animal, tanto de pesquisa quanto de fiscalização. O controle da saúde dos animais, além de garantir uma produção compatível com suas características zootécnicas, propicia uma fonte de alimento confiável (LAU et al., 1997).

Por meio dos censos agropecuários é possível fazer um levantamento sobre as principais informações das propriedades de criação de bovinos no estado do Pará. Hoje, sabe-se que 85% das propriedades que desenvolvem pecuária nessa região são

as pequenas e médias, que criam até 200 cabeças (AGÊNCIA PARÁ DE NOTÍCIAS, 2010). As criações são essencialmente extensivas (ANUALPEC, 2009). Já as informações a respeito das doenças que acometem os animais nos sistemas de produção da agricultura familiar amazônica são poucas (VEIGA et al., 1996).

Porém, é possível notar que a produção animal naquele estado está aquém do esperado, fato que pode ser exemplificado pela produção anual de leite de vaca (416.904.000 litros de leite), que representa menos de 2% da produção nacional (IBGE, 2008). Essa diminuição na eficiência pode estar ocorrendo por diversos motivos, incluindo os problemas na saúde dos animais ocasionados por doenças infecciosas e parasitárias.

As doenças transmissíveis da esfera reprodutiva que acometem os animais domésticos responsáveis pela ocorrência de abortamentos, infertilidade, esterilidade ou o nascimento de produtos fracos e debilitados representam um capítulo de particular importância em medicina veterinária, pois comprometem os índices de produção e produtividade da atividade pecuária (AGUIAR, 2004).

A etiologia das causas de abortamento em animais domésticos é bastante complexa, incluindo fatores hormonais, medicamentosos, traumáticos, congênitos e, principalmente, infecciosos (SMITH, 2006). Dentre estas últimas destacam-se a brucelose e a leptospirose por determinarem infecções crônicas de difícil tratamento e ocasionalmente fatais, além de se tratarem de zoonoses de importância mundial (ACHA; SZYFRES, 2003a; ACHA; SZYFRES, 2003b); e a neosporose, doença emergente que vêm se estabelecendo com alta prevalência em vários países como causa de abortamentos nos bovinos (McALLISTER et al., 1998; MOEN et al., 1998; DUBEY, 1999; STENLUND et al., 2003).

O desenvolvimento atual dos métodos de investigação epidemiológica tem propiciado procedimentos que, se introduzidos no delineamento dos inquéritos soropidemiológicos, permitirão a identificação dos fatores responsáveis pela presença e disseminação das doenças transmissíveis na população em questão (HOSMER JR; LEMESHOW, 1989).

Considerando a escassez de informações e a importância da obtenção de dados atualizados que mostrem a situação epidemiológica das enfermidades, o presente

trabalho procurou investigar a soroprevalência da neosporose, brucelose e leptospirose em rebanhos bovinos do estado do Pará, procurando-se associar fatores de risco para a ocorrência de animais ou rebanhos soropositivos. O levantamento da soroprevalência dessas enfermidades em bovinos tem grande importância no contexto nacional para os programas de sanidade animal que têm sido implantados em todos os estados. Os dados obtidos servirão de base para elaboração de métodos de controle e erradicação de doenças, podendo ser extrapolados como modelo para futuros projetos de pesquisa em outras regiões, já que são enfermidades disseminadas em todo o Brasil.

2 OBJETIVOS

- Determinar a ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* spp. em rebanhos bovinos do estado do Pará.
- Buscar associações da ocorrência de neosporose, brucelose e leptospirose com possíveis variáveis para a infecção.
- Avaliar a presença de anticorpos contra o(s) sorovar(es) mais freqüente(s) do gênero *Leptospira* em bovinos do estado do Pará.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Leptospira* spp.

A leptospirose é uma infecção causada por espiroquetas do gênero *Leptospira* (NOGUSHI, 1918), zoonose naturalmente transmissível entre animais vertebrados e o homem (CÔRTEZ, 1993).

Enfermidade mundialmente distribuída, a leptospirose, é particularmente prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe, com impacto na economia agropecuária. Na atualidade, as bactérias do tipo espiroqueta, ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae*, do gênero *Leptospira* (NOGUSHI, 1918) estão distribuídas em oito genomoespécies patogênicas, diferenciadas por métodos moleculares: *Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. weilli*, *L. alexandri*, *L. santarosai*, *L. kirschneri*, *L. inadai* e *L. faini*. Com base nas características antigênicas, estas espécies são classificadas sorologicamente em 23 sorogrupos e mais de 200 sorovares (ELLIS, 1995). As leptospirosas saprófitas ou de vida livre estão englobadas em três genomoespécies: *L. biflexa*, *L. meyeri* e *L. wolbachii*, com raros casos de doença (KMETY; DIKKEN, 1993).

A ocorrência de leptospirose está estreitamente vinculada aos fatores ambientais, sendo particularmente prevalente em países de clima tropical a subtropical, principalmente nos períodos de altos níveis pluviométricos (BLOOD et al., 1983), devido à grande sobrevivência do gênero *Leptospira* em ambientes úmidos, o que aumenta o risco de exposição e contaminação de animais suscetíveis (ACHA; SZYFRES, 2003b). A junção desses fatores pode dar lugar a um foco de infecção, cuja amplitude está na dependência de condições favoráveis, das características do habitat (alta umidade, altas temperaturas e solo com pH de neutro a ligeiramente alcalino) e a presença de animais silvestres (ALVES et al., 1996; GENOVEZ, 2006). Terrenos baixos, alagadiços, reservatórios naturais ou artificiais de água doce (lagoas, riachos, açudes, represas, etc) são favoráveis à sua sobrevivência (ACHA; SZYFRES, 2003b).

Hospedeiros adaptados ou de manutenção são altamente susceptíveis e seu ciclo de infecção é perpetuado dentro da mesma espécie, usualmente por transmissão direta. As sorovariedades adaptadas aos hospedeiros naturais favorecem a sua manutenção no meio ambiente, podendo atingir por transmissão indireta os hospedeiros incidentais, que são infectados de forma acidental, geralmente por espécie diferente. O homem se comporta na maioria das vezes como hospedeiro incidental, pois raramente se constitui em transmissor da infecção (FAINE et al., 1999).

A leptospirose humana atinge normalmente pessoas de baixo nível sócio econômico e o seu controle está diretamente relacionado às melhorias nas condições de saneamento básico (FÁVERO, 2000). Pode assumir caráter ocupacional, como no caso dos plantadores de arroz, cortadores de cana de açúcar, limpadores de esgotos, mineradores pelo contato com o meio ambiente contaminado pela urina de animais doentes ou como com veterinários e magarefes pela lida direta com animais (ACHA; SZYFRES, 2003b). Nas zonas rurais, a leptospirose humana ocorre pelo contato de trabalhadores com carcaças, fetos abortados e tecidos de animais infectados (FAINE et al., 1999).

Várias espécies animais, tanto silvestres quanto domésticas, podem albergar bactérias do gênero *Leptospira* e, assim, contribuir para sua manutenção na natureza (GUIMARÃES et al., 1982). Os animais silvestres podem atuar como fonte de disseminação e manutenção das leptospirosas no meio ambiente (BOLIN, 1996), pois em alguns ecossistemas com grande oferta de alimento estes animais convivem muito próximos aos animais de produção (DELBEM, 2004). Essa convivência próxima também pode ser devida aos desmatamentos para formação de novas pastagens em alguns locais do país, fato que têm ocorrido em muitos municípios do estado do Pará, como Brasil Novo onde mais de 80% do território está alterado devido à necessidade de pastos para a pecuária (AGÊNCIA PARÁ DE NOTÍCIAS, 2010).

Nos animais de produção, a leptospirose está principalmente relacionada aos problemas reprodutivos, com queda da produtividade dos rebanhos acometidos, nascimento de produtos debilitados, natimortos, abortamentos e condenação de vísceras após inspeção veterinária (SANTA ROSA et al., 1961; SULLIVAN; CALLAN, 1970; SANDOVAL et al., 1979; GIORGI et al., 1981). Nos bovinos, especificamente, as

perdas econômicas causadas pela leptospirose estão direta ou indiretamente ligadas às falhas reprodutivas como a infertilidade, o abortamento e à queda da produção de carne e leite, além de custos com despesas de assistência veterinária, vacinas e testes laboratoriais (VASCONCELLOS, 1996; FAINE et al., 1999).

A transmissão da leptospirose pode ocorrer pelo contato direto da pele lesada ou íntegra, das mucosas oral e conjuntival, com a urina e órgãos de animais portadores de leptospiras (MYERS, 1985; BINDER; MERMEL, 1998; FAINE et al., 1999). As vias transplacentária e mamária também podem ser consideradas na transmissão (GUIMARÃES et al., 1982).

A via venérea, pela monta natural realizada entre animais infectados é uma das mais importantes condições para a transmissão direta. A possibilidade de transmissão da leptospirose pelo sêmen industrializado é minimizada, desde que os critérios preconizados pela OIE em relação à saúde do touro doador e à manipulação do ejaculado sejam seguidos (CASTRO, 2006). Entretanto, no sêmen industrializado proveniente de touro infectado há a possibilidade de transmissão da leptospirose apesar de ser acrescido do extensor com antibióticos, sendo dependente da dose infectante e da sensibilidade da estirpe de *Leptospira* spp. ao protocolo antibiótico empregado, uma vez que o glicerol e o armazenamento em nitrogênio líquido permitem a conservação da bactéria (VASCONCELLOS, 1996; COSTA et al., 1998; RADOSTITS et al., 2000).

Nas criações, a disseminação da leptospira é caracterizada pela presença de animais doentes ou portadores assintomáticos que eliminam o agente pela urina e descargas cérvico-vaginais, além dos fetos abortados e placenta, mantendo a doença endêmica na propriedade. As leptospiras que são eliminadas na urina de animais infectados persistem no meio ambiente por tempo variável de acordo com as condições de umidade, temperatura e pH (FAINE et al., 1999).

Após a penetração pelas barreiras naturais, as leptospiras percorrem as vias linfáticas e sanguíneas, atingindo o pulmão, fígado e baço, onde se multiplicam durante uma semana, aproximadamente. Essa fase é denominada leptospiremia, onde ocorre o estágio febril. Nos órgãos há lesão das membranas das células endoteliais de vasos pequenos e destruição das hemácias, principalmente pela ação de toxinas e uma

hemolisina, levando à hemorragia. A consequência imediata é a perda da junção entre as células permitindo que tanto as leptospiras quanto o fluido migrem para os espaços extravasculares, acarretando uma isquemia e aumento da pressão nos tecidos, resultando na desintegração e morte celular, com perda da estrutura tecidual (CARLTON; MCGAVIN, 1998).

Na sequência, inicia-se a produção de anticorpos, que promove a eliminação de leptospiras dos tecidos de fagocitose (SULLIVAN, 1974; MYERS, 1985). A imunidade para a infecção inicial é tipicamente humoral, e diretamente relacionada ao sorovar (CASTRO, 2006). A produção de anticorpos da classe IgM acontece no período de incubação e pode persistir por sete a quatorze dias, sendo seguida pelos anticorpos de classe IgG, que podem persistir por longos períodos (REBHUN, 1995).

As lesões devidas ao efeito tóxico das leptospiras aparecem em 48-72 horas após a infecção, com o surgimento de petéquias hemorrágicas pela pele, o que parece estar relacionado ao número de leptospiras que sobreviveram e se multiplicaram (FAINE et al., 1999). Em animais que sobrevivem à fase aguda, as leptospiras persistem em sítios imunologicamente protegidos, como os túbulos proximais, câmara anterior do olho e trato genital. Nos rins, multiplicam-se ativamente atingindo o pico máximo em 3-4 semanas, sendo excretadas pela urina e acarretando uma nefrite intersticial aguda (CARLTON; MCGAVIN, 1998). Essa fase determina a leptospirúria, que confere aos animais importante papel na epidemiologia da leptospirose: os portadores assintomáticos renais ou genitais (SULLIVAN, 1974). No caso de bovinos infectados pode haver eliminação do agente pela urina por até um ano (HANSON, 1982; THIERMANN, 1984), com alta excreção de leptospiras nas primeiras quatro semanas.

As leptospiras podem se localizar no útero de vacas vazias ou prenhes, por até 97 e 142 dias respectivamente. No útero gestante pode originar a infecção fetal e há eliminação das leptospiras nas descargas uterinas pós-parto. O abortamento ocorre como seqüela de infecção sistêmica. Durante a fase de leptospiremia há morte fetal com ou sem degeneração placentária, seguida de eliminação fetal entre 24 e 48 horas após a infecção (RADOSTITS et al., 2000). Fetos bovinos infectados nos estágios tardios da gestação podem desenvolver anticorpos séricos detectáveis (ELLIS, 1994).

Na infecção pelo sorovar Hardjo, o trato genital superior também é um importante sítio de persistência, sendo isolado de glândulas acessórias e testículos de touros (ELLIS, 1994). Nas fêmeas bovinas esta sorovarietade parece ter efeito direto sobre a fertilização, interferindo com a função do corpo lúteo através da diminuição dos níveis de progesterona (DHALIWAL et al., 1996), além de ter sido relatado persistindo na glândula mamária de bovinos (THIERMANN, 1984). Essas infecções normalmente não são tão severas quanto às causadas por outros sorovares, como, por exemplo, Icterohaemorrhagiae, Pomona ou Grippotyphosa, que ocasionam surtos de abortamento (FAINE et al., 1999).

Os sinais clínicos na leptospirose bovina podem ser divididos em duas fases distintas: a primeira é a fase aguda, que coincide com a bacteremia e é observada com maior frequência em rebanhos jovens; a segunda é a fase crônica, que ocorre mais tardiamente e seus efeitos são mais aparentes no trato genital (ELLIS, 1984). As lesões mais proeminentes em ruminantes que morrem de leptospirose aguda resultam da hemólise intravascular e incluem anemia, icterícia, edema pulmonar e fígado pálido, friável e corado por bile. Os rins ficam tumefeitos e escuros devido à coloração por hemoglobina. Mais tarde, no curso da doença, os rins apresentam focos pálidos causados por infiltrados de células inflamatórias no interstício. As hemorragias são numerosas e disseminadas (CARLTON; MCGAVIN, 1998). No gado leiteiro, o aparecimento de mastite flácida (Síndrome da Queda do Leite) com agalactia e pequena quantidade de sangue no leite também têm sido relatados em alguns países (CASTRO, 2006), podendo ocorrer numa forma epizootica em rebanho não exposto e envolver cerca de metade dos animais por um período de dois meses ou mais, ou ainda, mais comumente nos rebanhos endêmicos na 1ª e 2ª lactação. Nestes casos, o retorno ocorre por volta de dez dias, mas geralmente as vacas não atingem mais a total potencialidade de produção naquela lactação. Esta síndrome está especialmente ligada ao sorovar Hardjo (ELLIS, 1984). A sorovarietade Hardjo também é responsável por uma leptospirose mais prolongada comparado à Pomona (ACHA; SZYFRES, 2003b).

Os vários sorovares de *Leptospira* spp. podem, teoricamente, infectar qualquer espécie animal, sem diferença de sexo, mas na prática existem sorovarietades endêmicas em uma determinada região ou país e adaptadas aos hospedeiros naturais,

favorecendo assim, sua preservação no meio ambiente (ACHA, SZYFRES, 2003b). Os sorovares Wolffi e Grippotyphosa podem estar presentes em alguns roedores silvestres e espécies marsupiais. Roedores sinantrópicos, suínos e cães são, respectivamente, considerados hospedeiros de manutenção dos sorovares Icterohaemorrhagiae, Pomona e Canicola (ELLIS, 1984; FAINE et al., 1999; RADOSTITS et al., 2000).

Dois genótipos da sorovariedade Hardjo são encontrados nos ruminantes, o Hardjobovis e o Hardjoprajitno. Hardjobovis ocorre com maior frequência na Nova Zelândia, Austrália, Estados Unidos e Holanda (FAINE et al., 1999), enquanto Hardjoprajitno tem sido relatado no Reino Unido, Nigéria, Índia, Malásia, Brasil e México (BAHAMAN; IBRAHIM, 1988; AGUIAR, 2004; LEON et al., 2008). Uma vez introduzido em um rebanho, o sorovar Hardjo estabelece níveis variáveis de infecção, podendo persistir por longos períodos (HATHAWAY et al., 1986). A infecção por esta sorovariedade independe de estações chuvosas e sistemas de criação (ELLIS, 1994).

No Brasil, a sorovariedade Hardjo tem sido considerada como a mais adaptada à espécie bovina (ELLIS, 1994; COSTA et al., 1998), apresentando soroprevalência de 16% em bovinos num estudo realizado na Paraíba (THOMPSON et al., 2006). Os sorovares Wolffi, Bratislava, Pomona, Hardjo e Gryppothyphosa vêm sendo apontados como importantes causadores de infecções em bovinos, responsáveis por abortamentos e queda na eficiência produtiva (ELLIS, 1994; LANGONI et al., 1999; ALONSO-ANDICOBERRY et al., 2001; GUITÍAN et al., 2001). Lilienbaum e Souza (2003) detectaram 46,9% de soropositividade para anticorpos anti-*Leptospira* em bovinos do Rio de Janeiro, sendo a sorovariedade Hardjo a mais freqüente. Resultados similares foram encontrados em Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2001). O sorovar Hebdomadis também tem sido encontrado com mais freqüência (ACHA; SZYFRES, 2003b; MINEIRO et al., 2007). Foi feita uma investigação em 47% dos municípios de Minas Gerais onde se encontrou freqüência de 43,4% soros reagentes a sorovares da variante Hadjoprajitno e 13,2% ao sorovar Wolffi (ARAÚJO et al., 2005). Também no Mato Grosso do Sul o sorovar Hardjo foi apontado como o mais provável, seguido de Wolffi. A prevalência real observada nesse estudo foi alta, de 98,8% de sororreagentes em 96,5% dos rebanhos analisados e a análise das variáveis associadas à soropositividade dos rebanhos para pelo menos um sorovar identificaram como fatores

de risco o tipo de exploração (corte) e a raça (Nelore) (FIGUEIREDO et al., 2009). Na Paraíba, encontrou-se uma frequência de 16% de soropositivos para a sorovariedade Hardjo, porém altamente disseminados em 83,3% das propriedades e em todos os 18 municípios estudados (THOMPSON et al., 2006). Lilenbaum e Souza (2003), ao realizarem um estudo de fatores de risco para leptospirose no Rio de Janeiro, encontraram uma associação positiva com a baixa frequência de visitas de veterinários na propriedade e com a criação conjunta de outras espécies, principalmente suínos. Porém a localização geográfica e o tipo de instalação dos animais não afetaram a prevalência significativamente. No estudo de Castro (2006) no estado de São Paulo observou-se uma soroprevalência de infecção por *Leptospira* spp. de 49,4% em 71,3% das propriedades. A prevalência dos sorovares estabelecida por animal foi de Hardjo (46%), associação das sorovariedades Hardjo e Wolffi (21%), sorovares Shermani (8,9%), Autumnalis (4,46%) e Grippytyphosa (3,9%). O tamanho do rebanho, compra de animais, compartilhamento de pastagem, criação de ovinos e suínos e o uso de inseminação artificial foram apontados como fatores de risco enquanto que a utilização de piquetes maternidade constituiu-se num fator de proteção contra leptospirose. No município de Monte Negro, Rondônia, obteve-se prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp em 53,9% dos bovinos e em 95,3% das propriedades, sendo que o sorovar Hardjo também foi o mais prevalente ente os bovinos e o sorovar Shermani o mais prevalente entre as propriedades rurais; determinou-se a alta densidade animal como sendo fator de risco para a ocorrência de sorologia positiva (AGUIAR, 2004). Segundo Fávero et al. (2001), as variantes sorológicas predominantes no estado do Pará foram Hardjo e a combinação Wolffi + Hardjo. Em outro estudo epidemiológico também realizado no Pará, no município de Uruará, Homem (1999) encontrou uma prevalência de leptospirose bovina em 97% das propriedades, sendo o sorovar Hardjo apontado como o mais provável em 61,2% delas, seguido pela sorovariedade Bratislava, com 9% de positividade. A tabela 1 lista os principais inquéritos sorológicos sobre leptospirose em bovinos no Brasil.

Tabela 1 – Ocorrência e prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em bovinos oriundos de diversos estados brasileiros, utilizando a técnica SAM - São Paulo – 2008-2009

Referência	Prevalência ou Ocorrência	Local
Castro (2006)	49,4% (3338/8216)	São Paulo/SP
Vasconcellos et al. (1997)	60,4% (1480/2449)	PR, MS, RJ, SP, MG e RS
	51,9% (137/264)	PR
	70,5% (304/431)	MS
	57,4% (252/439)	RJ
	55,3% (243/439)	SP
	53,9% (235/436)	MG
	70,2% (309/440)	RS
Mineiro et al. (2007)	52,9% (1044/1975)	Paraníba/PI
Favero et al. (2001)	37,9% (11884/31325)	21 estados BR
	25,2% (130/517)	SC
	25,2% (30/119)	CE
	26,0% (435/1675)	PR
	28,9% (709/2451)	RS
	29,2% (12/41)	DF
	35,0% (5802/16558)	SP
	38,3% (177/305)	PA
	40,7% (33/81)	PB
	41,2% (40/97)	TO
	41,3% (475/674)	RJ
	41,3% (1855/4487)	MG
	46,5% (487/1406)	GO
	54,5% (12/22)	RO
	55,8% (19/34)	RN
	56,0% (126/225)	PI
	58,2% (216/371)	MA
	58,4% (59/101)	AL
	61,0% (401/657)	BA
	62,2% (68/270)	ES
	62,3% (550/882)	MS
	62,5% (148/237)	MT
Araujo et al. (2005)	19,7% (7653/38883)	MG
Figueiredo et al. (2009)	98,8% (1801/2573)	MS
Thompson et al. (2006)	16,0% (376/2343)	PB
Lilenbaum e Souza (2003)	46,9% (178/379)	RJ
Tenório et al. (2005)	57,7% (346/600)	PE

Uma das formas de controle da leptospirose depende da diminuição da prevalência da infecção com sorovares mantidos na população e na diminuição do grau de associação ecológica das leptospiros mantidas por animais de vida livre

(HATHAWAY, 1981). Na prática veterinária, baseia-se na vacinação sistemática do rebanho, tratamento de animais doentes com antibioticoterapia, controle dos roedores nas propriedades e eliminação de excesso de água do ambiente (DE NARDI JR, 2005).

O diagnóstico da leptospirose é dificultado pelo grande número de sorovares e a possibilidade de ocorrência de infecção por mais de um sorovar (ACHA; SZYFRES, 2003b). Genovez et al. (2001) relatam que os exames laboratoriais diretos, que empregam o cultivo em meios específicos, necessitam da viabilidade das leptospiras nas amostras clínicas, o que nem sempre é possível, interferindo na sensibilidade. A detecção do DNA bacteriano através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e suas variações assegura elevadas sensibilidade e especificidade, desde que garantidas grande variedade de material clínico e rapidez no processamento (RICHTZENHAIN et al., 2002; CASTRO, 2006).

O teste de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos (SAM) é a prova recomendada pela OMS para a pesquisa de aglutininas séricas anti-leptospíricas nos animais e no homem. Face às dificuldades e exigências nutricionais para o isolamento de *Leptospira* spp. esta prova é indicada para o diagnóstico da doença causada por sorovares adaptados às espécies ou por sorovares acidentais (BRASÍLIA, 1995).

A SAM detecta tanto anticorpos do tipo IgM como IgG, sendo sua resposta considerada indicativa do possível sorovar infectante. A caracterização da sorovariedade infectante só é possível através do isolamento e identificação do agente (GUIMARÃES et al., 1982).

3.2 *Neospora caninum*

O protozoário *Neospora caninum* é classificado como um coccídio Apicomplexa da classe Sporozoa, pertencente à família Sarcocystidae (DUBEY et al., 1988).

A neosporose é uma doença parasitária que acomete diversas espécies animais, principalmente cães e bovinos, mas ocasionalmente ovinos, caprinos, veados, rinocerontes, lhamas e alpacas (DUBEY et al., 2006) e cuja ocorrência já foi relatada

em diversos países, incluindo o Brasil (ANDERSON et al., 1991; FRANCO et al., 2003; FIGLIUOLO et al., 2004; GENNARI et al., 2005a, b; LISTA-ALVES et al., 2006). A espécie bovina pode servir como hospedeiro intermediário do *Neospora caninum* (DUBEY; LINDSAY, 1996), que é um protozoário intracelular obrigatório e com potencial zoonótico ainda não definido, porém tal enfermidade vem sendo descrita como uma das mais importantes causadoras de surtos de abortamento em bovinos em diferentes países (HEMPHILL; GOTTSTEIN, 2000; HALL et al., 2005; MEDINA et al., 2006).

A primeira descrição do *Neospora caninum* foi feita em cães (BJERKÅS et al., 1984) e depois em bezerros com mieloencefalite (PARISH et al., 1987), porém somente foi isolado e nomeado em 1988 (DUBEY et al., 1988).

O protozoário tem um ciclo de vida heteroxeno. Cães (*Canis familiaris*) e coiotes (*Canis latrans*) são seus únicos hospedeiros definitivos reconhecidos (MCCALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004b). Os bovinos e uma grande variedade de outros animais de sangue quente podem agir como hospedeiros intermediários. Existem três estágios infectantes do parasita: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Taquizoítos e bradizoítos ocorrem em tecidos de hospedeiros infectados (intermediário e definitivo), enquanto que os esporozoítos estão presentes em oocistos que são excretados nas fezes do hospedeiro definitivo. Os bradizoítos são formas de replicação lenta do parasita, que se localizam em cistos nos tecidos (DUBEY et al., 2006). O *N. caninum* pode infectar tipos celulares variados, incluindo neurônios, células do epêndima, células mononucleares do líquido espinhal, células endoteliais, íntima e média (incluindo o tecido conjuntivo) dos vasos sanguíneos (incluindo os vasos do SNC), miofibras esqueléticas e miocárdicas, macrófagos, neutrófilos e fibroblastos (CARLTON; MCGAVIN, 1998).

Um hospedeiro definitivo carnívoro pode adquirir a infecção pela ingestão de tecidos contendo os cistos. Esse hospedeiro irá excretar oocistos na forma não esporulada em suas fezes, quando então ocorre a esporulação, e cada oocisto irá conter dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos (DUBEY et al., 2006). O *N. caninum* é transmitido de forma muito eficiente nos bovinos e ambas as vias de transmissão, vertical e horizontal, tem um importante papel na infecção e são vitais para a sobrevivência do parasita. A transmissão horizontal ocorre quando o bovino ingere o

oocisto esporulado (DE MAREZ et al., 1999). A transmissão vertical é responsável pela disseminação da infecção de uma fêmea persistentemente infectada para sua progênie durante a gestação, por uma recrudescência da infecção (transmissão transplacentária endógena). Quando a ingestão de oocistos ocorre durante a gestação (transmissão transplacentária exógena), o parasita invade as células do útero gestante, originando assim surtos de abortamentos (BUXTON et al., 2002).

O abortamento, que é a principal manifestação clínica da neosporose, pode ocorrer a partir do terceiro mês até o final da gestação, contudo sua ocorrência é mais comum entre o 5º e o 6º mês (MOORE et al., 2002; PAULA et al., 2004). Mas, na maioria das vezes, a fêmea concebe um bezerro saudável e congenitamente infectado, o que contribui para a persistência da doença no rebanho (SCHARES et al., 1998). As fêmeas podem permanecer infectadas por toda a vida e podem transmitir a infecção para sua progênie em várias gestações consecutivas ou intermitentemente.

Taquizoítos de *N. caninum* podem ser excretados pelo leite ou por descargas uterinas de fêmeas bovinas infectadas, porém essas vias de transmissão são de pouca importância (DUBEY et al., 2006). É pouco provável que o parasita seja transmitido por via venérea ou pela transferência de embriões, sendo que esta última foi recomendada como método de controle para evitar a transmissão transplacentária endógena (BAILLARGEON et al., 2001).

Fetos que morrem no útero normalmente são expelidos demonstrando uma autólise moderada, porém fetos que morrem antes do 5º mês de gestação podem sofrer mumificação, ficando retidos no útero por vários meses, e aqueles que morrem no início da gestação podem ser reabsorvidos, com repetição do cio (MOORE et al., 2002).

Raramente, sinais neurológicos aparecem em bezerros congenitamente infectados com menos de um mês de idade. Esses animais podem ter um peso ao nascimento abaixo da média e serem incapazes de se levantar. Membros anteriores ou posteriores, ou ambos, podem estar fletidos ou hiperextendidos e ao exame neurológico revela-se ataxia, reflexos patelares diminuídos e perda de propriocepção. Já foi reportada exoftalmia e, ocasionalmente, escoliose, hidrocefalia e estreitamento da espinha vertebral (PARISH et al., 1987; DUBEY et al., 1990, 1998; PETERS et al., 2001).

A neosporose bovina é essencialmente uma doença da placenta e do feto, iniciada após uma parasitemia materna. Na transmissão transplacentária exógena, provavelmente os oocistos existam no intestino delgado, cada um deles liberando oito esporozoítos. O esporozoíto parasita o epitélio intestinal, se transforma em taquizoíto e sofre uma fase de multiplicação, possivelmente nos linfonodos mesentéricos. Deste ponto, o taquizoíto alcança a corrente sanguínea, disseminando-se pelos tecidos, incluindo o útero gravídico (DUBEY et al., 2006).

No gado persistentemente infectado, o *N. caninum* fica confinado ao sistema nervoso central (SNC) e músculo esquelético (SCHARES et al., 1998), provavelmente na forma de bradizoítos em cistos teciduais (SAWADA et al., 2000), em equilíbrio com o sistema imunológico das fêmeas. Durante a gestação, entretanto, há uma aparente diminuição da resposta imunitária ao parasita, permitindo uma reativação dos cistos teciduais, com liberação de bradizoítos. As hipóteses para o mecanismo da ocorrência do abortamento sugerem que o dano placentário induzido pelo parasita possa levar a um perigo direto à sobrevivência do feto ou que ele possa estimular a liberação de prostaglandinas que causem luteólise e conseqüente abortamento (DUBEY et al., 2006). A taxa de infecção transplacentária aumenta com a idade gestacional (GONDIM et al., 2004a).

A lesão predominante em bezerras que nascem com doença clínica é a encefalomielite (BUXTON et al., 2002).

A neosporose bovina está amplamente distribuída pelo mundo, sendo relatada na Europa, Escandinávia, África, Austrália, Nova Zelândia e Américas (DUBEY, 1999).

Vários estudos de ocorrência já foram realizados na América do Sul (PATITUCCI et al., 2000; MOORE et al., 2002), América do Norte (DYER et al., 2000), Europa (JENSEN et al., 1999; MAGNINO et al., 1999; DE MEERSHMAN et al., 2000) e Oceania (REICHEL, 1998). Da mesma forma, no Brasil, estudos de prevalência já foram realizados na Bahia (GONDIM et al., 1999), no Paraná (GUIMARÃES JÚNIOR, 2003), no Mato Grosso do Sul (OSHIRO et al., 2007), no Pará (MINERVINO et al., 2008), Goiás (MELO et al., 2006), Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2006), Paraná (GUIMARÃES et al., 2004) obtendo-se valores variando entre 8,8 e 39,9% dos animais (Tabela 2).

Tabela 2 – Ocorrência e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos oriundos de diversos estados brasileiros - São Paulo – 2008-2009

Referência	Prevalência ou Ocorrência	Local	Técnica
GONDIM et al (1999)	14,1% (63/447)	BA	RIFI
STTOBE (1999)	39,9% (67/168)	SP	RIFI
COSTA et al (2001)	16,8% (101/600)	SP e MG	RIFI
CORBELLINI et al (2002)	11,2% (25/223)	RS	RIFI
SILVA et al (2002)	34,7% (163/469)	Gravatá/PE	RIFI
RAGOZO et al (2003)	23,6% (189/802)	Brasil	RIFI
	28,2% (31/110)	MS	RIFI
	29,0% (47/162)	MG	RIFI
	22,2% (20/90)	PR	RIFI
	14,7% (22/150)	RJ	RIFI
	20,0% (28/140)	RS	RIFI
	23,6% (41/150)	SP	RIFI
SARTOR et al (2003)	15,9% (83/512)	Avaré/SP	RIFI
AGUIAR (2004)	8,8% (220/2109)	RO	RIFI
GUIMARÃES JÚNIOR et al (2004)	14,3% (89/623)	PA	RIFI
OGAWA et al (2005)	11,7% (45/385)	PR	RIFI
CORBELLINI et al (2006)	17,8% (276/1549)	SP	RIFI
MINERVINO et al (2008)	18,7% (30/160)	Santarém/PA	RIFI

Em um estudo realizado em seis estados brasileiros, observou-se ocorrência de 23,6% de animais positivos, sendo que os mais afetados eram os bovinos de mais de 24 meses (RAGOZO et al., 2003). Em dois municípios do Rio de Janeiro, observou-se uma prevalência de 25,74% e 20,38% animais apresentando anticorpos anti-*Neospora caninum*, em mais de 80% das propriedades, não sendo verificada associação entre a positividade dos animais e o município de origem (MUNHOZ et al., 2006). Sartor et al. (2003) observaram em bovinos do município de Avaré, estado de São Paulo, uma ocorrência de 15,9% de animais soropositivos para *Neospora caninum*. No município de Monte Negro, Rondônia, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos foi de 8,79%, em 72% das propriedades analisadas, apresentando frequência de 9,5, 11,2 e 9,7% para animais de aptidão corte, leite e mista, respectivamente. Neste mesmo estudo, foi observada associação positiva entre a ocorrência de animais soropositivos e o tamanho da propriedade (propriedades maiores que 110 hectares apresentaram maior proporção de positivos), número de animais presentes nas propriedades (mais de

25 animais) e tipo de exploração zootécnica (fazendas com animais de corte) (AGUIAR, 2004).

A presença e o número de cães, a criação de aves domésticas, o fornecimento de silagem, o tamanho da propriedade e o fornecimento de colostro foram fatores de risco observados em rebanhos bovinos leiteiros com ocorrência de abortos associados ao *N. caninum* (BARTELS et al., 1999; CORBELLINI et al., 2006).

Os programas de controle para *N. caninum* em rebanhos devem considerar a possibilidade de transmissão vertical e horizontal. O controle da transmissão horizontal requer a proteção dos alimentos e da água de consumo dos animais para que não se contaminem com oocistos provenientes das fezes dos hospedeiros definitivos (cães e coiotes), evitar a alimentação dos cães com sobras de abate de bovinos e o consumo de materiais contaminados, como placenta, abortos e tecidos, além de limitar o acesso dos cães às áreas de pastagem e instalações (DUBEY, 2003). No tocante ao diagnóstico da neosporose, Dubey e Lindsay (1996) relataram a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) como o teste sorológico de eleição na detecção de anticorpos contra o *N. caninum* em diferentes espécies animais, a partir do soro sanguíneo.

3.3 *Brucella abortus*

A brucelose bovina é uma doença infecto-contagiosa de evolução crônica, causada pela bactéria *Brucella abortus* (NIELSEN; DUNCAN, 1990), caracterizada por comprometer especialmente o sistema reprodutivo dos animais domésticos (GRASSO; CARDOSO, 1998). Sua ocorrência é motivo de sérias restrições comerciais, o que faz com que os países onde a doença ocorre estabeleçam programas para seu controle e posterior erradicação. Os rebanhos bovinos são desvalorizados, pois estão sujeitos a surtos de abortamentos, com redução progressiva do rebanho pela queda de natalidade (GRASSO, 2003).

No gênero *Brucella* são descritas seis espécies independentes, cada uma com seu hospedeiro preferencial: *Brucella abortus* (bovino e bubalinos), *Brucella melitensis* (caprinos e ovinos), *Brucella suis* (suínos), *Brucella ovis* (ovinos), *Brucella canis* (cães) e *Brucella neomatae* (rato do deserto). As três primeiras espécies, denominadas de brucelas clássicas, são subdivididas em biovares, devido à diferenças em características bioquímicas, comportamentais ou ambas, frente a soros monoespecíficos. *B. abortus* possui 7 biovares (ACHA; SZYFRES, 2003a). As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativos com morfologia de cocobacilos Gram-negativos, imóveis; podem apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucóide). Essa morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular e, para algumas espécies, tem relação com a virulência. *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* normalmente apresentam uma morfologia de colônia do tipo lisa; quando evoluem para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas. Embora os bovinos sejam suscetíveis à *B. suis* e *B. melitensis*, inequivocadamente a espécie mais importante é a *B. abortus*, responsável pela grande maioria das infecções (BRASÍLIA, 2006).

É transmitida através do alimento, água e leite contaminados ou pelo contato direto com animais infectados, que eliminam o agente principalmente por descargas uterinas e sêmen (RADOSTITS et al., 2000).

A principal fonte de infecção é representada pela vaca prenhe, que elimina grandes quantidades do agente por ocasião da produção do aborto ou parto, e em todo o período puerperal (cerca de 30 dias após o parto), contaminando pastagens, água, alimentos e fômites. As bactérias podem permanecer viáveis por longos períodos no meio ambiente, dependendo das condições de sombreamento, ampliando de forma significativa a chance de o agente entrar em contato e infectar um novo indivíduo suscetível. A porta de entrada mais importante é o trato digestivo, sendo que a transmissão pelo coito não parece ser de grande importância. Na monta natural, o sêmen é depositado na vagina, onde existem defesas inespecíficas que dificultam o processo de infecção (BRASÍLIA, 2006). Porém, o uso de touros contaminados na produção de sêmen para inseminação artificial é uma perigosa via de transmissão,

podendo disseminar a infecção em rebanhos. Atualmente sabe-se da ocorrência de infecção congênita (transmissão vertical) e do fenômeno da latência (vacas que soroconvertem no final da prenhez), que ocorrem em baixa frequência, mas podem dificultar a erradicação da brucelose em programas de controle (ACHA; SZYFRES, 2003a).

Entre os bovinos, as vacas são as mais suscetíveis, sobretudo quando prenhes, seguidas dos touros. Os novilhos e animais castrados não desempenham papel importante na epizootiologia da brucelose (VASCONCELLOS et al., 1987).

O principal sintoma clínico é o abortamento e a expulsão prematura dos fetos. Em infecções experimentais demonstrou-se que o período de incubação é inversamente proporcional ao desenvolvimento do feto. Outros fatores como virulência, quantidade de inoculo, via de infecção e a suscetibilidade do animal fazem o período de incubação variar (ACHA; SZYFRES, 2003a).

A lesão inicial da infecção é uma linfadenite que se torna crônica, causando colonização do baço, dos linfonodos, da glândula mamária, dos testículos, das glândulas sexuais acessórias do macho e das membranas sinoviais. O útero gravídico é particularmente suscetível à infecção. As lesões macroscópicas na placenta são edema do alantocório intercotiledonário que apresenta aumento de opacidade e textura coriácia, exsudato marrom-claro sobre a superfície coriônica e graus variáveis de necrose dos cotilédones. O feto apresenta lesões inespecíficas de edema e acúmulo de líquido nas cavidades do organismo e, muitas vezes, apresenta lesões mais específicas de broncopneumonia e de pleurite. Microscopicamente, a inflamação envolve o córion intercotiledonário e as vilosidades coriônicas. As lesões consistem de edema e de infiltração de células mononucleares e alguns poucos neutrófilos. O aspecto morfológico marcante é a presença de numerosos cocobacilos nas células epiteliais coriônicas, muitas das quais estão descamadas, formando consideráveis quantidades de detritos entre os tecidos maternal e fetal. Os microrganismos são liberados da circulação materna para hematomas que ocorrem normalmente na ponta dos septos da porção materna dos placentomas, sendo tomados por trofoblastos eritrofágicos na base das vilosidades coriônicas e replicados em trofoblastos do alantocório ao redor dos placentomas adjacentes. Ocorre necrose trofoblástica, ulceração alantocoriônica, a

entrada das brucelas para o lúmen uterino e vilosidades coriônicas e, finalmente, a disseminação hematogênica para as vísceras do feto. A vasculite nos tecidos maternos e fetais pode ser devido à liberação de endotoxina pelos microrganismos. Granulomas microscópicos que incluem células gigantes multinucleadas podem ser encontrados em vários órgãos como fígado, baço e linfonodos (CARLTON; MCGAVIN, 1998). Em geral, se produz o aborto na segunda metade da prenhez, às vezes com retenção placentária e, como conseqüência, uma metrite que pode ser causa de infertilidade permanente (ACHA; SZYFRES, 2003a). Após a infecção, o abortamento quase sempre acontece na primeira gestação, mas, em decorrência do desenvolvimento de imunidade celular, é pouco freqüente na segunda gestação após a infecção e muito raro nas subseqüentes (BRASIL, 2006).

Em touros causa uma orquite intratubular que se torna necrosante. Inicialmente, um ou ambos testículos estão tumefeitos até limite estreito permitido pela túnica albugínea. Exsudato fibrinoso distende a cavidade túnica vaginal. Focos de necrose nos testículos expandem-se e podem coalescer, de maneira que a maior parte do testículo está afetada, tornando-se liquefeita ou caseosa. As túnicas que cercam os testículos, e qualquer quantidade de testículo que sobreviveu, tornam-se densamente fibrosas (CARLTON; MCGAVIN, 1998).

A brucelose ocorre em todo o mundo e a *B. abortus* é a espécie mais amplamente difundida (ACHA; SZYFRES, 2003a). No Brasil, estudos mostram que a brucelose bovina parece estar disseminada por todo o território brasileiro, com maior ou menor prevalência dependendo da região. Em 1975, foram verificadas as seguintes prevalências em animais, por regiões: Sul, 4%; Sudeste, 7,5%; Centro-Oeste, 6,8%; Nordeste, 2,5% e Norte, 4,1% (BRASÍLIA, 2006).

No Pará, Homem (1999) determinou uma prevalência de brucelose bovina por propriedade de 52,2% com uma freqüência de 8,5% de bovinos positivos. Neste mesmo estado, observou-se uma ocorrência de sorologia positiva para brucelose bovina em 11,29% dos animais (MOLNÁR et al., 2000). No município de Monte Negro, estado de Rondônia, Aguiar (2004) encontrou uma prevalência de brucelose de 14,8% em bovinos, e de 62,7% das propriedades. Este mesmo autor observou associação da ocorrência de sorologia positiva para brucelose em propriedades com mais de 25

bovinos, com atividade do tipo corte, com histórico de repetição de cio e presença de neonatos enfermos. Outro estudo de prevalência no estado de São Paulo detectou prevalência de 3,7% nos animais e 38% das propriedades avaliadas apresentaram pelo menos um animal positivo em seus rebanhos (KURODA, 2002). Também em dois municípios do estado de São Paulo, foi encontrada prevalência bastante similar, de 3,43% de bovinos positivos, distribuídos em 16,67% dos rebanhos analisados, sendo que os animais com idade mais avançada e as fêmeas apresentaram mais chance de serem infectados (MURAKAMI, 2003). No Rio Grande do Sul observou-se 1,22% de prevalência para a enfermidade em bovinos (POLETTTO et al., 2004). Já no estado do Mato Grosso do Sul detectou-se prevalência mais elevada de brucelose bovina, de 5,6% nos animais (MONTEIRO et al., 2006). Recentemente, foi estabelecida a situação epidemiológica da brucelose bovina em 15 estados brasileiros, conforme a tabela 3. Em levantamentos sorológicos feitos em outros países também há preocupação com relação à brucelose. Um estudo no Cazaquistão demonstrou prevalência de 5,4% de brucelose bovina (LUNDERVOLD et al., 2004).

Tabela 3 – Prevalência de anticorpos anti-*Brucella abortus* em bovinos oriundos de diversos estados brasileiros - São Paulo – 2010 (continua)

Estado	Prevalência	Fatores de risco	Fatores	Referência
ES	3,50%	IA Confinamento/ Semiconfinamento	Vacinação	AZEVEDO et al (2009)
DF	0,16%	-	-	GONÇALVES et al (2009b)
SP	3,80%	N rebanho ≥ 87 Compra de reprodutores	-	DIAS et al (2009b)
TO	4,40%	N rebanho ≥ 120 Abate de reprodutores	Vacinação Piquete parição Aptidão leite	OGATA et al (2009)
SC	0,06%	-	-	SIKUSAWA et al (2009)
GO	1,40%	Compra reprodutores Venda de gado Presença de aborto Vacinação	-	ROCHA et al (2009)

(conclusão)				
Estado	Prevalência	Fatores de risco	Fatores	Referência
MT	10,20%	Aptidão corte Aptidão mista N rebanho \geq 10	-	NEGREIROS et al (2009)
RJ	4,10%	Presença de aborto N rebanho \geq 30 Fêmeas \geq 24 meses	-	KLEIN-KUNNEWIEK et al (2009)
		Compra de reprodutores	-	
SE	3,40%	Aluguel de pastos Assistência veterinária N rebanho \geq 30 fêmeas adultas	-	SILVA et al (2009)
MG	1,10%	IA Compra de reprodutores Presença de aborto Presença de cervídeos	Vacinação	GONÇALVES et al (2009a)
RS	1,00%	Aptidão corte Presença de aborto	-	MARVULO et al (2009)
RO	6,20%	Presença de aborto Aptidão corte	-	VILLAR et al (2009)
PR	1,70%	Compra de reprodutores	-	DIAS et al (2009a)
BA	0,66%	Aluguel de pasto Compra de reprodutores Presença de áreas alagadiças	Vacinação	ALVES et al (2009)
MS	4,50% (Planalto) 12,60% (Pantanal)	N rebanho \geq 500 Presença bezerros fracos IA	-	CHATE et al (2009)

A reposição animal (frequência e origem de compra), a proximidade com rebanhos infectados e transporte de fômites contaminados por outras espécies animais são considerados fatores de risco para a transmissão da brucelose inter-rebanhos. Já para a transmissão intra-rebanhos, observam-se como fatores de risco a alta densidade populacional, o tipo de criação, a rotação animal e o manejo reprodutivo (NIELSEN; DUNCAN, 1990; OMER et al., 2000).

Estimativas mostram que a brucelose é responsável pela diminuição de 25% na produção de leite e carne e pela redução de 15% na produção de bezerros. Mostram ainda que, em cada cinco vacas infectadas, uma aborta ou torna-se permanentemente estéril (BRASÍLIA, 2006). Outro fator de destaque da doença é o fato de se tratar de uma importante zoonose, principalmente em alguns grupos ocupacionais (profissionais da agropecuária), sendo que a sintomatologia é de uma enfermidade febril intermitente ou irregular, com astenia, aumento de tamanho dos órgãos do sistema linfático, artralgias e dores generalizadas. A Organização Mundial da Saúde calcula que a cada ano se produzem ao redor de meio milhão de casos de brucelose humana no mundo (ACHA; SZYFRES, 2003a).

Para o controle da enfermidade, devem ser considerados fatores relacionados à densidade populacional, manejo (segregação por faixa etária, promiscuidade e separação das fêmeas por ocasião do parto), hábitos alimentares, disponibilidade tecnológica (pasteurização do leite) e educação sanitária da população (LIRA, 1984).

O diagnóstico sorológico da brucelose bovina no Brasil foi regulamentado pela Instrução Normativa nº2 de 10 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASÍLIA, 2001), no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Tuberculose, Brucelose, e Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (PNCTB). Neste programa, a prova do antígeno acidificado tamponado (AAT) é indicada como prova de rotina (triagem), no qual a presença de qualquer aglutinação classificará o animal como reagente. Ao critério do médico veterinário, os animais reagentes no AAT poderão ser submetidos a teste confirmatórios (como a soroaglutinação lenta em tubos – SAL – ou o 2-mercaptoetanol – 2-ME) ou destinados ao sacrifício.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo e amostragem

O estudo foi realizado no estado do Pará, localizado na região Norte do Brasil. Sua capital é Belém e ele possui uma área de 1.248.042 km². Seu clima é quente e úmido durante o ano todo, com temperatura média anual de 27°C. Possui 143 municípios e população de 7.065.573 habitantes.

Localizado na Amazônia Oriental, o estado está situado no maior corredor de florestas protegidas do mundo, com mais de 717 mil km² (cerca de 71 milhões de hectares) divididos em áreas de proteção integral, de uso sustentável e de terras indígenas (PARÁ, 2010).

O estado conta com um efetivo bovino de 12.807.706 cabeças, entre animais de aptidão carne e leite, distribuídas em 82.651 propriedades, segundo o último Censo Agropecuário Nacional de 2006 (IBGE, 2008).

4.2 Cálculo da amostragem e colheita das amostras

Foi realizado um cálculo de amostragem estatística em *cluster* de todo o estado, para a espécie bovina, levando em consideração o rebanho de 17.430.496 cabeças, distribuídas em 143 municípios do estado e em 89.985 propriedades rurais cadastradas (IBGE, 2008). Para estabelecer com precisão a ocorrência da infecção pelas enfermidades foi efetuada uma amostragem probabilística em duas etapas. Inicialmente foi considerado apenas o número de propriedades cadastradas, utilizando o software Win Episcopo 2.0 e considerando um erro de 6%, intervalo de confiança de 95% e prevalência de doença de 80% dentre as propriedades, que foi observada em estudo preliminar na região considerando pelo menos um animal positivo em cada fazenda.

Deste modo, obteve-se um número de 171 propriedades a serem amostradas (MINERVINO et al., 2006).

Foi realizado então um cálculo proporcional do número de propriedades em cada município, em relação ao total do estado, sendo este valor percentual obtido, multiplicado pelo N amostras, que é de 171. Deste modo, todos os municípios que apresentaram resultado superior ou igual a uma propriedade a ser examinada, foram incluídos neste estudo, perfazendo um total de 73 municípios. Para melhor entendimento segue abaixo a fórmula utilizada:

$$NA = (n * 100/N) * NT/100$$

n = Número de propriedades em cada município

N = Número total de propriedades no estado

NT = Número amostral Total do estado (previamente calculado) = 171

NA = Número amostral de propriedades em cada município

Posteriormente, foi calculado o número de amostras de sangue coletadas em cada propriedade utilizando o sistema de detecção de doença do software Episcopo 2.0 considerando a prevalência de 20% e intervalo de confiança de 95% obteve-se um número de 14 amostras por propriedade. Esta prevalência, em relação ao total de animais infectados, foi obtida em estudo preliminar em um município do estado (MINERVINO et al., 2006), contudo para aumentar a precisão da estimativa da prevalência de animais infectados, foram coletadas vinte (20) amostras em cada propriedade, totalizando 3.420 amostras em todo o estado.

As amostras de soro foram obtidas assepticamente por venopunção jugular ou cefálica, utilizando-se sistema a vácuo estéril sem anticoagulante (Vacuttainer®), com agulha 21G, retirando-se, aproximadamente, 10 mL de sangue por animal. Este foi centrifugado a 2500 r.p.m por 10 minutos para a obtenção do soro sangüíneo, as amostras foram, então, identificadas e aliqüotadas em tubos tipo eppendorf e conservadas em freezer (-20° C), para posterior realização das provas sorológicas.

4.3 Inquérito epidemiológico

Durante a visita às propriedades foi aplicado um questionário epidemiológico (Anexo A), elaborado com o intuito de verificar se a ausência ou presença de algumas práticas e condições locais poderiam atuar como variáveis associadas à condição de ocorrência para as enfermidades em estudo.

4.4 Reações sorológicas

Para testar as amostras em busca dos anticorpos específicos foram realizadas técnicas já estabelecidas nos respectivos laboratórios e consideradas como teste padrão (“golden test”).

4.4.1 *Neospora caninum*

A totalidade dos soros foi analisada utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), para se verificar a ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* conforme descrito por Dubey et al. (1988).

Taquizoítos de *N. caninum* (isolado NC-1) vêm sendo mantidos por passagens contínuas em cultura de monócitos bovinos, no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade de São Paulo (USP), e foram utilizados como antígenos na RIFI para sensibilização das lâminas. Na confecção das lâminas utilizou-se uma suspensão dos taquizoítos e para o preparo da suspensão foi necessária a remoção do soro fetal bovino, utilizado como meio de crescimento, aproximadamente 12 horas antes da preparação do antígeno.

A suspensão foi centrifugada a 350G por 10 minutos a 4°C. Os taquizoítos foram ressuspendidos em solução salina estéril a 0,9% e contabilizados em câmara de Neubauer (Normax), para posterior obtenção da concentração ($\times 10^7$ taquizoítos/mL).

Na preparação das lâminas para RIFI foram adicionados 20 μ L da suspensão de taquizoítos em cada um dos orifícios das lâminas e, logo em seguida, removido o excesso. Após secagem à temperatura ambiente, as lâminas foram fixadas com metanol, armazenadas em caixas de propileno e mantidas a -20°C.

Os soros dos bovinos foram diluídos a 1:25 em tampão fosfato pH 7,2 (0,0084M Na_2HPO_4 , 0,0018M NaH_2PO_4 e 0,147M NaCl) acrescentado de soro albumina bovina 1%, sendo em seguida distribuídos 20 μ L por orifício nas lâminas contendo o antígeno específico fixado. Em cada lâmina também foram incluídos soros bovinos controles (testemunhas) positivo e negativo previamente conhecidos.

Após 30 minutos de incubação em estufa a 37°C, as lâminas foram lavadas com solução tampão carbonatada pH 9,0 (0,108M Na_2CO_3 , 0,4M NaHCO_3 e 0,145M NaCl) por três vezes e, em seguida, incubadas com conjugado IgG de coelho anti-IgG bovino (SIGMA F-7887) marcado com isotiocianato de fluoresceína e previamente diluído (1:3000) em solução PBS contendo azul de Evans 0,01%. As lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos a 37°C e lavadas como descrito anteriormente. Após a secagem à temperatura ambiente, realizou-se a montagem com lamínula utilizando glicerina tamponada pH 8,0. A leitura foi realizada em microscópio epifluorescente OLYMPUS BX-FLA.

Foram considerados positivos os soros capazes de determinar fluorescência em todo contorno do antígeno. Reações que ocorriam de forma apical ou parcial foram consideradas negativas. O ponto de corte do teste é de 1:25 (GUIMARÃES JÚNIOR, 2003). As amostras consideradas positivas foram sucessivamente diluídas na razão dois para obtenção do título final.

Esse teste foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

4.4.2 *Brucella abortus*

Conforme decreto do MAPA, seguindo as recomendações para o PNCEBT, o sorodiagnóstico de anticorpos para *B. abortus* em bovinos é realizado através de um teste de triagem e confirmado com o resultado de duas outras técnicas combinadas.

4.4.2.1 Soroaglutinação Rápida em Placa com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), corado pelo Rosa Bengala

As amostras de soro bovino foram testadas para a prova do AAT (ALTON et al., 1975). O antígeno utilizado consiste de uma suspensão celular inativada de *B. abortus*, na concentração de 8,0% pH 3,65, corado com rosa bengala, mantido entre 2°C e 8°C e produzido pelo Instituto Biológico de São Paulo.

O soro e o antígeno permanecerão por 30 minutos em temperatura ambiente, antes da realização da prova. As reações serão realizadas em placas de vidro quadriculadas padrão, depositando-se 0,03mL do soro a ser testado e, em seguida, depositado ao lado do soro 0,03mL do antígeno.

A homogeneização do soro e antígeno foi realizada com bastão de vidro, formando círculos de dois centímetros de diâmetro. Durante quatro minutos, foram realizados movimentos oscilatórios na placa, à razão de 20 a 30 movimentos por minuto. A leitura foi realizada ao final deste período, colocando-se a placa na caixa de leitura com luz indireta.

Os resultados serão interpretados a partir de reações de aglutinação, indicadas pela presença de grumos nas amostras positivas e ausência nas negativas (BRASÍLIA, 2001).

Essa análise foi realizada na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA.

4.4.2.2 Soroaglutinação lenta em tubos (SAL)

As amostras reagentes ao AAT serão testadas através da Soroaglutinação Lenta em tubos (SAL) segundo Alton et al. (1976). O antígeno utilizado consistiu em uma suspensão inativada de *B. abortus*, na concentração de 4,5% produzido pelo Instituto Biológico, padronizado segundo referências do Centro Pan-americano de Zoonoses.

O soro e o antígeno permaneceram durante 30 minutos em temperatura ambiente, antes da realização da prova. O antígeno foi diluído a uma concentração final de 0,045%, em solução NaCl 0,85% contendo 0,5% de fenol (1:100), 12 horas antes do uso e mantido sob refrigeração. Com a pipeta em contato com o fundo de cada tubo, depositaram-se as quantidades de 0,08; 0,04; 0,02 e 0,01 mL de soro a testar. Deixou-se escorrer pela parede de cada um dos tubos 2 mL do antígeno diluído, homogeneizando-se suavemente, resultando diluições de 1:25, 1:50, 1:100 e 1:200. Em cada teste também foram incluídos tubos de controle de antígeno, usando-se soros testados positivos de título conhecido e soro negativo. As reações foram incubadas em estufa a 37°C, durante 48 horas, sendo a leitura realizada através de uma fonte de luz indireta contra um fundo escuro e opaco, sendo as fontes de luz estranhas reduzidas.

A reação positiva foi caracterizada pela presença de película no fundo do tubo, com sobrenadante límpido e presença de grumo na ressuspensão da película. As amostras negativas caracterizaram-se pela ausência de película e presença de sobrenadante turvo. Nas reações incompletas a mistura soro-antígeno apareceu parcialmente translúcida, e uma suave agitação não rompia os grumos.

4.4.2.3 Soroaglutinação lenta em tubos com 2-mercaptoetanol (2-ME)

As amostras reagentes ao AAT foram simultaneamente testadas pelo 2-ME conforme Alton et al. (1975). O antígeno utilizado consistiu em uma suspensão

inativada de *B. abortus*, na concentração de 4,5%, produzido pelo Instituto Biológico, padronizado segundo referências do Centro Pan-americano de Zoonoses.

O soro e o antígeno permaneceram durante 30 minutos em temperatura ambiente antes da realização da prova. O antígeno foi diluído, 12 horas antes do uso, a 0,090% em solução de NaCl 0,85% (1:50). A solução de 2-mercaptoetanol foi preparada acrescentando-se 7,8mL de 2-mercaptoetanol a 992,20 mL de solução NaCl 0,85%, em capela de exaustão. A distribuição dos soros a serem testados nos tubos seguiu o mesmo padrão da SAL. Agregou-se 1 mL de solução de 2-ME 0,1M a cada um dos tubos, seguindo-se de agitação das estantes para misturar bem. Deixou-se as estantes com as amostras em repouso durante 30 minutos à temperatura ambiente. Após esse período, adicionou-se 1 mL do antígeno diluído 1:50 em cada tubo, seguido novamente de agitação.

Em cada teste também foram incluídos tubos de controle de antígeno, usando-se soros testados positivos de título conhecido e soro negativo.

A incubação e a leitura dos resultados foram seguidas nos mesmos padrões da prova de soroaglutinação lenta em tubos.

A interpretação das provas confirmatórias (SAL e 2-ME) foram realizadas segundo o preconizado pelo MAPA, através do quadro comparativo para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e vacinadas entre 3 e 8 meses de idade (BRASÍLIA, 2001). A interpretação dos títulos dos testes pode ser observada no anexo B.

As análises foram realizadas na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA.

4.4.3 *Leptospira* spp.

Todas as amostras de soros provenientes de rebanhos não vacinados para leptospirose foram testadas pela microtécnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), prova de referência pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o diagnóstico da leptospirose através da mensuração

dos níveis de aglutininas, efetuada em microplacas com leitura direta através de objetiva de longa distância (GALTON et al., 1965; COLE et al., 1973).

A SAM foi realizada utilizando-se uma coleção de culturas vivas de *Leptospira* spp. como antígeno, com um representante de cada sorogrupo, totalizando 22 variantes sorológicas, apresentadas no quadro 1. As bactérias vivas foram cultivadas em meio líquido de EMJH (Ellinghausing; Mcolloug; Johnson; Harris) modificado (ALVES et al., 1996) de acordo com as normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 1995). O meio de cultura foi suplementado com 15% de soro de coelho estéril inativado a 56°C por 30 minutos, enriquecido com 1% de piruvato de sódio, 1% de cloreto de cálcio, 1% de cloreto de magnésio e 3% de L-asparagina. Na sequência, as culturas foram incubadas durante sete a dez dias em estufa bacteriológica a 28°C. Cada cultura foi examinada quanto à pureza e ausência de autoaglutinação em microscopia de campo escuro no aumento de 100x. a densidade antigênica foi acertada para conter aproximadamente de 100 a 200 microrganismos por campo microscópico (100x).

Inicialmente, os soros foram diluídos a 1:50 em solução salina tamponada de Sorënsen pH 7,4 (1,33M NaCl, 0,00064M KH₂PO₄, 0,004M Na₂HPO₄) e distribuídos em microplacas de poliestireno com 96 poços (COSTAR), 50 µL por poço, sendo em seguida adicionado 50µL de antígeno, obtendo-se diluição inicial 1:100. Cada amostra sorológica foi colocada frente à bateria antigênica com 22 sorovares. As microplacas foram incubadas em estufa a 28-30°C por três horas.

A leitura foi realizada em microscópio óptico Jena Zeiss com condensador de campo escuro seco, no aumento de 100 vezes. Serão considerados positivos os soros de animais que apresentarem 50% ou mais de aglutinação. As amostras positivas na diluição inicial serão diluídas sucessivamente, na razão dois, e testadas para o(s) sorovare(s) com o(s) qual(is) apresentar(em) reação. O título final será caracterizado com a maior diluição que ainda apresentar 50% ou mais de aglutinação (FAINE et al., 1999)

Os soros foram testados no laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo.

Quadro 1 - Relação das espécies de *Leptospira*, sorogrupos e sorovariedades que foram empregados como antígenos na reação de Soroaglutinação Microscópica, realizada sob a forma de microtécnica – São Paulo – 2009

Espécie	Sorogrupo	Sorovar
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi
<i>L. borgpetersenii</i>	Celledoni	Whitcombi
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
<i>L. interrogans</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjoprajitno
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Sentot
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes
<i>L. kirschneri</i>	Autumnalis	Butembo
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani

4.5 Estatística

Foram analisadas as frequências de presença de anticorpos para os agentes causadores das doenças nas amostras de soro, bem como as variáveis quantitativas relacionadas às propriedades estudadas. O estudo de associação entre características ambientais e resultado dos exames sorológicos foi feito através de análise univariada, para análise das variáveis qualitativas (HOSMER; LEMESHOW, 1989).

Nessas etapas trabalhou-se com a variável dicotômica denominada resultado, que assumiu o valor 1, caso a propriedade fosse caracterizada como positiva para as

doenças estudadas e 0, caso o resultado fosse negativo. Para as variáveis qualitativas, o valor 1 foi usado como indicativo de um resultado considerado adequado e o valor 2, um resultado não adequado.

Na análise univariada calculou-se como medida de associação o teste do Qui-quadrado (χ^2) com intervalo de confiança de 95%.

No caso de variáveis quantitativas sem distribuição normal foi utilizado o teste de Mann-Whitney. As análises foram realizadas com auxílio do programa SPSS para Windows®.

5 RESULTADOS

5.1 Descrição das propriedades e animais amostrados

O tamanho das propriedades variou entre 20 a 103.886 hectares. Quando o tamanho da propriedade era informado em alqueires, a conversão para hectares foi realizada utilizando-se a convenção válida para todos os Estados de que 1 alqueire do norte equivale a 2,72 hectares, conforme dados do Ministério do Desenvolvimento Agrário (BRASÍLIA, 2004b). O tamanho mediano das propriedades foi de 386,32 ha, área média de 2435,35 e desvio padrão de 9369,91 ha.

Das 176 propriedades estudadas, 92 (52,3%) eram bovinoculturas de corte, 54 (30,7%) eram de exploração leiteira e 30 (17,0%) realizavam exploração mista (corte e leite). A tabela 5 apresenta todas as propriedades com suas respectivas dimensões e exploração zootécnica.

Através de uma amostragem de conveniência, foram obtidas amostras de 3466 vacas, representando um rebanho total de 271.833 animais. O tamanho dos rebanhos nas propriedades variou entre 20 e 25.000 animais, com tamanho mediano de 530 animais, média de 1608,5 e desvio padrão de 3423,3 animais. Esses animais pertenciam a 176 propriedades distribuídas em 59 municípios, conforme se observa no mapa da figura 1.

Figura 1 – Municípios do estado do Pará com propriedades visitadas para colheita de amostras (em branco) – 2010

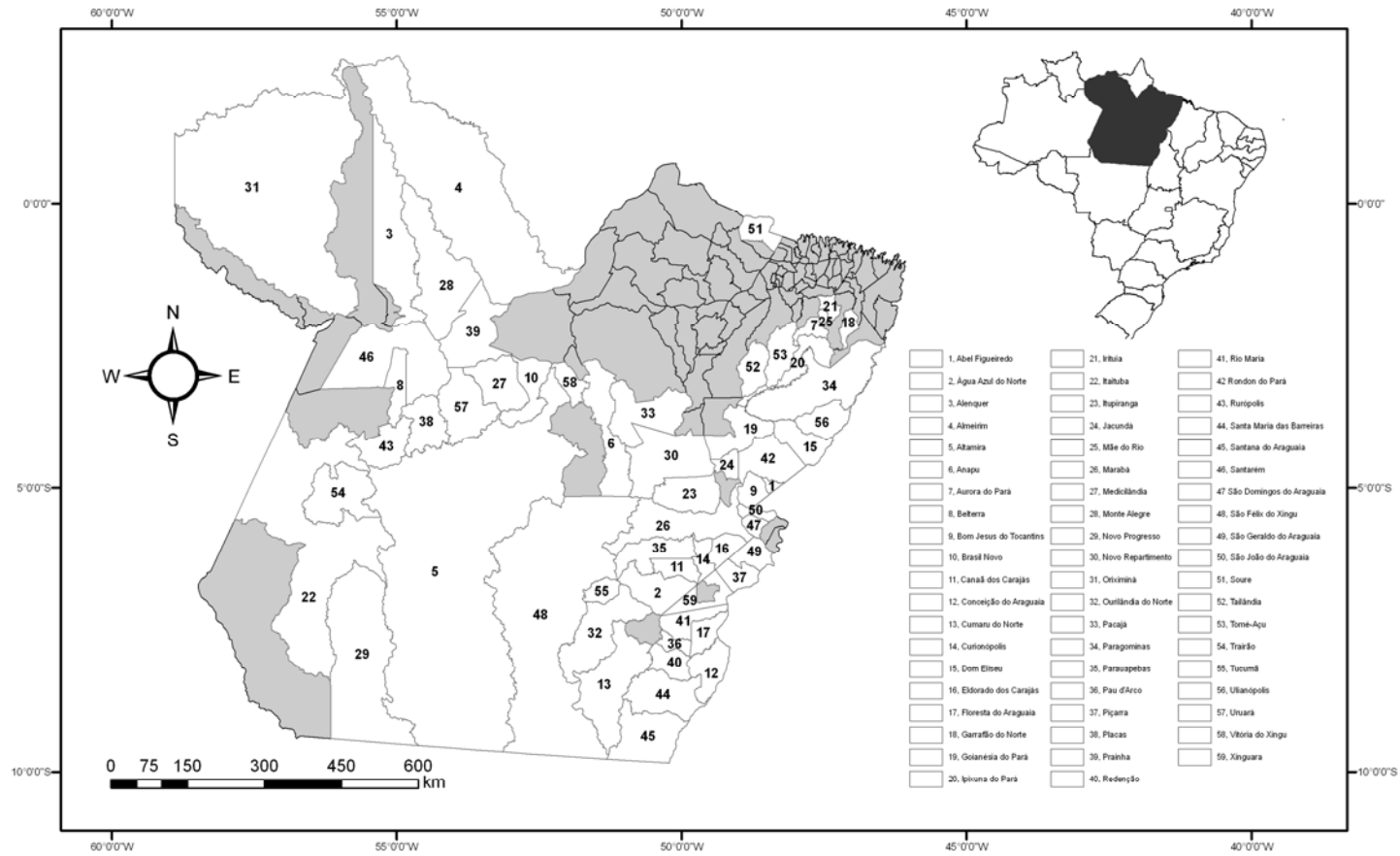


Tabela 4 – Distribuição de propriedades segundo área e exploração zootécnica – Pará
– 2008 (continua)

Propriedade	Área (Ha)	Aptidão	Propriedade	Área (Ha)	Aptidão
1	120,00	Corte	43	40,80	Leite
2	100,00	Corte	44	136	Corte
3	65,00	Leite	45	24,48	Leite
4	100,00	Corte	46	163,20	Corte
5	10,00	Leite	47	110,00	Corte
6	178,00	Corte	48	5440,00	Corte
7	100,00	Leite	49	1200,00	Mista
8	67,76	Mista	50	217,60	Mista
9	30,36	Leite	51	136,00	Corte
10	20,00	Mista	52	200,00	Corte
11	25,00	Mista	53	2000,00	Corte
12	800,00	Corte	54	200,00	Leite
13	...	Corte	55	3000,00	Corte
14	54,40	Corte	56	450,00	Corte
15	62,56	Leite	57	2000,00	Corte
16	103,36	Mista	58	1000,00	Corte
17	2448,00	Corte	59	2000,00	Corte
18	660,96	Mista	60	1000,00	Corte
19	677,00	Corte	61	2000,00	Corte
20	544,00	Corte	62	11000,00	Corte
21	272,00	Mista	63	2148,00	Corte
22	45000,00	Mista	64	2420,00	Corte
23	1033,60	Corte	65	163,20	Leite
24	54,40	Leite	66	43,52	Leite
25	435,20	Mista	67	554,88	Leite
26	38,08	Leite	68	38,08	Leite
27	1496,00	Corte	69	63,00	Leite
28	500,00	Corte	70	54,40	Leite
29	75,00	Leite	71	217,60	Corte
30	400,00	Mista	72	32,64	Leite
31	290,00	Leite	73	190,40	Mista
32	54,40	Leite	74	...	Leite
33	57,12	Leite	75	150,00	Corte
34	163,20	Mista	76	16,00	Leite
35	620,16	Corte	77	400,00	Corte
36	29,92	Mista	78	1900,00	Corte
37	54,40	Corte	79	400,00	Corte
38	54,40	Corte	80	816	Corte
39	3600,00	Corte	81	3872	Corte
40	21,76	Leite	82	136	Leite
41	21,76	Leite	83	76,16	Leite
42	174,08	Leite	84	1200,00	Corte

(continuação)

Propriedade	Área (Ha)	Aptidão	Propriedade	Área (Ha)	Aptidão
85	850,00	Corte	128	150,00	Leite
86	...	Mista	129	325,00	Corte
87	1000,00	Mista	130	...	Corte
88	2448,00	Mista	131	952,00	Mista
89	70,72	Leite	132	244,80	Leite
90	...	Corte	133	114,24	Leite
91	329,12	Corte	134	480,00	Corte
92	251,00	Mista	135	150	Mista
93	68,00	Leite	136	116,96	Leite
94	103886,00	Corte	137	272,00	Corte
95	34000,00	Corte	138	25000,00	Corte
96	92,48	Corte	139	6000,00	Corte
97	5984,00	Corte	140	304,64	Corte
98	48,96	Leite	141	146,88	Corte
99	1196,80	Corte	142	1000,00	Corte
100	500,00	Corte	143	101,00	Leite
101	800,00	Corte	144	871,00	Corte
102	100,00	Leite	145	372,64	Mista
103	54,40	Leite	146	1000,00	Leite
104	435,00	Corte	147	200,00	Leite
105	255,68	Mista	148	2575,00	Corte
106	...	Mista	149	2484,00	Corte
107	730,00	Corte	150	12870,00	Mista
108	...	Leite	151	2500,00	Corte
109	1010,00	Mista	152	2000,00	Corte
110	1500,00	Corte	153	500,00	Leite
111	462,40	Mista	154	2500,00	Corte
112	768,00	Leite	155	5500,00	Corte
113	36,30	Leite	156	5500,00	Leite
114	183,92	Leite	157	1500,00	Corte
115	3000,00	Corte	158	2000,00	Corte
116	7000,00	Corte	159	5440,00	Corte
117	600,00	Mista	160	57,12	Corte
118	5000,00	Corte	161	3000,00	Corte
119	7000,00	Corte	162	6500,00	Corte
120	350	Corte	163	334,56	Corte
121	81,60	Leite	164	54,40	Leite
122	190,40	Leite	165	500,00	Corte
123	233,92	Mista	166	200,00	Corte
124	600,00	Leite	167	15000,00	Corte
125	900,00	Corte	168	1428,00	Corte
126	800,00	Corte	169	750	Corte
127	300,00	Leite	170	285,60	Leite

(conclusão)					
Propriedade	Área (Ha)	Aptidão	Propriedade	Área (Ha)	Aptidão
171	600,00	Corte	174	100,00	Mista
172	5000,00	Corte	175	...	Leite
173	350,00	Leite	176	870,40	Mista

5.2 Características gerais das propriedades e animais

Animais de raças definidas (Nelore, Brahman, Holandês, Gir, etc) eram criados somente em 43,9% (72) das propriedades, enquanto que o restante era representado por animais mestiços ou sem raça definida.

Das propriedades estudadas, 86,3% (145) possuíam cães, sendo que o número mediano de cães foi 3 e a média de 3,55 animais por estabelecimento, com desvio padrão de 4,6.

As fontes de água para os animais apresentaram as mais diversas naturezas, portanto, para este estudo, foram consideradas como adequadas as fontes artificiais, em propriedades que mantinham bebedouros, e inadequadas aquelas em que os animais tinham acesso a fontes naturais de água (rios, lagos, córregos, represas, açudes, etc). Essa última característica foi observada na maioria das propriedades onde foi possível averiguar a condição, ou seja, em 80,7% (113).

Em 47,7% (41) das propriedades havia assistência veterinária e em 80% (68) delas os donos adquiriam seus touros de outras propriedades.

A maioria dos criadores utilizava unicamente suas áreas particulares para criação de seus próprios animais, pois somente 39,5% (32) usavam pasto alugado e 8,7% (6) alugavam pastos para vizinhos. Porém, 69,4% (93) dividiam os pastos dos bovinos com outras espécies animais (ovinos, caprinos, suínos e bubalinos). A presença de eqüinos foi observada em todas as propriedades avaliadas.

Constatou-se que 51,6% (63) das propriedades apresentavam áreas alagadiças, ou seja, regiões que permaneciam inundadas após períodos de chuva.

Quanto às vacinações, 92,1% (151) dos entrevistados utilizavam a vacina de brucelose em seus animais, 55,4% (67) vacinavam contra raiva e 80,2% (89) usavam vacinas para as clostridioses em geral. Todos alegaram vacinar contra febre aftosa e somente em uma propriedade utilizava-se vacina para leptospirose bovina. No entanto, em 79,2% (122) das propriedades utilizava-se a mesma agulha da seringa para vacinação dos animais, sendo que em algumas havia troca após a vacinação de 20, 30 ou 50 animais, ou somente quando a agulha quebrava.

Somente 52,6% (80) dos criadores proviam destino correto às carcaças dos animais mortos, enterrando-as ou através de incineração.

Com relação às características reprodutivas, a maioria das propriedades utilizava monta natural, pois o uso da inseminação artificial foi relatado em somente em 24,8% (38). Em 66,7% (108) das propriedades informou-se haver ocorrência de abortamentos, sendo que o número mediano de abortamentos calculado foi de 2,5 por propriedade, com média de 14,5 abortamentos por ano e desvio padrão de 43,1. Em 51 propriedades (64,6%) havia o manejo correto das vacas que abortavam (sacrifício ou venda), mas 81,5% (66) delas não providenciavam um destino correto ao aborto, deixando-o no pasto.

2.1 Sorologia para *Neospora caninum*

Os resultados individuais por propriedades obtidos na pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* pelo emprego da RIFI nos soros sanguíneos dos animais provenientes das 174 propriedades dos 59 municípios do estado do Pará estão apresentados na Tabela 5 e os títulos de anticorpos obtidos dos animais soropositivos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 5 – Número total de animais por município e propriedade testados para *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* spp., provenientes do Estado do Pará – 2008 (continua)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		Número de Amostras			Número de Amostras			Número de Amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
Abel Figueiredo	175	20	5	25,0	20	0	0	20	16	80,0
	176	20	2	10,0	20	0	0	20	8	40,0
	Total	40	7	17,5	40	0	0	40	24	60,0
Água Azul do Norte	88	18	7	38,9	18	1	5,6	18	9	50,0
	89	20	1	5,0	20	1	5,0	20	11	55,0
	90	19	3	15,8	19	0	0	19	15	78,9
	91	19	2	10,5	19	0	0	19	16	84,2
	Total	76	13	17,0	76	2	2,6	76	51	67,1
Alenquer	52	20	4	20,0	20	0	0	20	9	45,0
	53	20	0	0	20	1	5,0	20	11	55,0
	54	20	3	15,0	20	1	5,0	20	20	100,0
	55	20	5	25,0	20	3	15,0	20	20	100,0
	56	20	1	5,0	20	8	40,0	20	16	80,0
	Total	100	13	13,0	100	13	13,0	100	76	76,0
Almeirim	146	13	7	53,8	13	0	0	13	4	30,1
	147	20	16	80,0	20	1	5,0	20	7	35,0
	Total	33	24	72,7	33	1	3,0	33	11	33,3
Altamira	84	20	0	0	19	2	10,5	19	15	78,9
	85	20	0	0	20	2	10,0	20	16	80,0
	86	20	1	5,0	20	3	15,0	20	7	35,0
	87	-	-	-	20	0	0	20	14	70,0
	Total	60	1	1,6	79	7	8,7	79	52	65,8
Anapú	103	20	7	35,0	20	1	5,0	20	8	40,0
	104	20	3	15,0	20	1	5,0	20	17	85,0
	105	20	1	5,0	20	3	15,0	20	11	55,0
	Total	60	11	18,3	60	5	8,3	60	36	60,0
Aurora do Pará	153	-	-	-	20	0	0	20	16	80,0
	154	-	-	-	20	0	0	20	14	70,0
	Total	-	-	-	40	0	0	40	30	75,0
Belterra	6	20	3	15,0	20	1	5,0	20	16	80,0
	Total	20	3	15,0	20	1	5,0	20	16	80,0
Bom Jesus do Tocantins	163	20	4	20,0	20	1	5,0	20	15	75,0
	164	20	3	15,0	20	0	0	20	14	70,0
	Total	40	7	17,5	40	1	2,5	40	29	72,5

(continuação)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		Número de Amostras			Número de Amostras			Número de Amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
Brasil Novo	109	20	0	0	20	0	0	20	12	60,0
	110	20	3	15,0	20	0	0	20	9	45,0
	111	20	3	15,0	19	0	0	19	11	57,9
	Total	60	6	10,0	59	0	0	59	32	54,2
Canaã dos Carajás	130	20	6	30,0	20	0	0	20	1	5,0
	131	20	5	25,0	20	1	5,0	20	3	15,0
	Total	40	11	27,5	40	1	2,5	40	4	10,0
Conceição do Araguaia	24	20	2	10,0	20	0	0	20	13	65,0
	25	20	1	5,0	20	0	0	20	13	65,0
	26	19	1	5,3	19	0	0	19	15	78,9
	27	20	1	5,0	20	0	0	20	15	75,0
	28	18	0	0	18	0	0	18	12	66,7
	29	19	4	21,1	19	0	0	19	12	63,2
	30	20	4	20,0	20	0	0	20	12	60,0
	Total	136	13	9,5	136	0	0	136	92	67,7
Cumaru do Norte	155	20	4	20,0	20	0	0	20	9	45,0
	156	20	3	15,0	20	0	0	20	15	75,0
	Total	40	7	17,5	40	0	0	40	24	60,0
Curionópolis	168	20	2	10,0	20	0	0	20	17	85,0
	169	20	4	20,0	20	1	5,0	20	17	85,0
	Total	40	6	15,0	40	1	2,5	40	34	85,0
Dom Eliseu	161	20	7	35,0	20	3	15,0	20	16	80,0
	162	20	7	35,0	20	0	0	20	2	10,0
	Total	40	14	35,0	40	3	7,5	40	18	45,0
Eldorado dos Carajás	62	20	2	10,0	20	0	0	20	0	0
	63	20	11	55,0	20	1	5,0	20	3	15,0
	64	18	8	44,4	18	0	0	18	1	5,6
	Total	58	21	36,2	58	1	1,7	58	4	6,9
Floresta do Araguaia	92	15	1	6,7	15	1	6,7	15	9	60,0
	93	20	0	0	20	1	5,0	20	7	35,0
	Total	35	1	2,8	35	2	5,7	35	16	45,7
Garrafão do Norte	157	20	4	20,0	20	1	5,0	20	10	50,0
	158	20	7	35,0	20	0	0	20	11	55,0
	Total	40	11	27,5	40	1	2,5	40	21	52,5

(continuação)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		Número de Amostras			Número de Amostras			Número de Amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
Goianésia do Pará	127	20	2	10,0	20	0	0	20	15	75,0
	128	20	5	25,0	20	0	0	20	14	70,0
	129	20	3	15,0	20	0	0	20	14	70,0
	Total	60	10	16,7	60	0	0	60	43	71,7
Ipixuna do Pará	138	20	2	10,0	20	0	0	20	18	90,0
	139	20	1	5,0	20	0	0	20	18	90,0
	Total	40	3	7,5	40	0	0	40	36	90,0
Irituia	151	20	3	15,0	20	0	0	20	13	65,0
	152	20	5	25,0	20	0	0	20	16	80,0
	Total	40	8	20,0	40	0	0	40	29	72,5
Itaituba	76	20	2	10,0	20	2	10,0	20	11	55,0
	77	20	1	5,0	20	3	15,0	20	14	70,0
	78	20	0	0	20	1	5,0	20	17	85,0
	79	20	1	5,0	20	7	35,0	20	16	80,0
	Total	80	4	5,0	80	13	16,3	80	58	72,5
Itupiranga	42	19	0	0	19	0	0	19	11	57,9
	43	18	3	16,7	18	0	0	18	10	55,6
	44	20	2	10,0	20	0	0	20	17	85,0
	45	20	1	5,0	20	1	5,0	20	20	100,0
	46	20	3	15,0	20	2	10,0	20	17	85,0
	Total	97	9	9,2	97	3	3,1	97	75	77,3
Jacundá	121	20	2	10,0	20	0	0	20	9	45,0
	122	20	4	20,0	20	0	0	20	11	55,0
	123	20	8	40,0	20	3	15,0	20	15	75,0
	Total	60	14	23,3	60	3	5,0	60	35	58,3
Mãe do Rio	173	20	5	25,0	20	0	0	20	6	30,0
	Total	20	5	25,0	20	0	0	20	6	30,0
Marabá	36	20	4	20,0	20	0	0	20	9	45,0
	37	20	7	35,0	20	2	10,0	20	14	70,0
	38	14	1	7,1	14	0	0	14	4	28,6
	39	20	2	10,0	20	0	0	20	18	90,0
	40	20	2	10,0	20	0	0	20	17	85,0
	41	20	8	40,0	20	0	0	20	11	55,0
	Total	114	24	21,0	114	2	1,8	114	73	64,0

(continuação)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		Número de amostras			Número de amostras			Número de amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
Medicilândia	100	20	5	25,0	20	0	0	20	13	65,0
	101	20	2	10,0	20	0	0	20	13	65,0
	102	20	7	35,0	20	0	0	20	15	75,0
	Total	60	14	23,3	60	0	0	60	41	68,3
Monte Alegre	74	20	1	5,0	20	0	0	20	10	50,0
	75	20	2	10,0	20	1	5,0	20	10	50,0
	Total	40	3	7,5	40	1	2,5	40	20	50,0
Novo Progresso	148	20	0	0	20	0	0	20	1	5,0
	149	20	2	10,0	20	1	5,0	20	19	95,0
	Total	40	2	5,0	40	1	2,5	40	20	50,0
Novo Repartimento	16	20	1	5,0	20	1	5,0	20	11	55,0
	17	20	5	25,0	20	0	0	20	17	85,0
	18	20	1	5,0	20	0	0	20	16	80,0
	19	20	5	25,0	20	2	10,0	20	13	65,0
	20	20	2	10,0	20	0	0	20	12	60,0
	21	20	2	10,0	20	0	0	20	12	60,0
	22	20	5	25,0	20	0	0	20	13	65,0
	23	20	4	20,0	20	0	0	20	13	65,0
	Total	160	25	15,6	160	3	1,9	160	107	66,9
Oriximiná	134	20	2	10,0	20	0	0	20	13	65,0
	135	20	2	10,0	20	2	10,0	20	15	75,0
	Total	40	1	2,5	40	2	5,0	40	28	70,0
Ourilândia do Norte	136	20	2	10,0	20	1	5,0	20	20	100
	137	20	0	0	20	0	0	20	19	95,0
	Total	40	2	5,0	40	1	2,5	40	39	97,5
Pacajá	31	20	2	10,0	20	0	0	20	15	75,0
	32	20	0	0	20	4	20,0	20	11	55,0
	33	20	3	15,0	20	2	10,0	20	9	45,0
	34	20	3	15,0	20	1	5,0	20	16	80,0
	35	20	2	10,0	20	0	0	20	15	75,0
	Total	100	10	14,0	100	7	7,0	100	66	66,0
Paragominas	118	20	1	5,0	20	1	5,0	20	2	10,0
	119	20	4	20,0	20	1	5,0	20	15	75,0
	120	20	4	20,0	20	0	0	20	15	75,0
	Total	60	9	15,0	60	2	3,3	60	32	53,3

(continuação)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		Número de Amostras			Número de Amostras			Número de Amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
Parauapebas	80	20	7	35,0	20	2	10,0	20	10	50,0
	81	20	2	10,0	20	0	0	20	13	65,0
	82	20	13	65,0	20	2	10,0	20	12	60,0
	83	20	8	40,0	20	2	10,0	20	13	65,0
	Total	80	30	37,5	80	6	7,5	80	48	60,0
Pau D'Arco	159	20	1	5,0	20	1	5,0	20	18	90,0
	160	20	4	20,0	20	1	5,0	20	14	70,0
	Total	40	5	12,5	40	2	5,0	40	32	80,0
Piçarra	112	20	3	15,0	20	0	0	20	17	85,0
	113	20	1	5,0	20	1	5,0	20	16	80,0
	114	20	3	15,0	20	0	0	20	14	60,0
	Total	60	7	11,6	60	1	1,7	60	47	78,3
Placas	124	20	1	5,0	20	0	0	20	8	40,0
	125	20	0	0	20	0	0	20	8	40,0
	126	20	0	0	20	0	0	20	7	35,0
	Total	60	1	1,6	60	0	0	60	23	38,3
Prainha	165	20	3	15,0	20	0	0	20	16	80,0
	Total	20	3	15,0	20	0	0	20	16	80,0
Redenção	140	20	0	0	20	0	0	20	17	85,0
	141	20	3	15,0	20	0	0	20	16	80,0
	Total	40	3	7,5	40	0	0	40	33	82,5
Rio Maria	144	15	0	0	-	-	-	-	-	-
	145	20	1	5,0	-	-	-	-	-	-
	Total	35	1	2,8	-	-	-	-	-	-
Rondon do Pará	106	20	4	20,0	20	0	0	20	17	85,0
	107	20	3	15,0	20	1	5,0	20	15	75,0
	108	20	2	10,0	20	0	0	20	17	85,0
	Total	60	9	15,0	60	1	1,7	60	49	81,7
Rurópolis	115	19	0	0	19	0	0	19	13	68,4
	116	20	2	10,0	20	0	0	20	18	90,0
	117	20	1	5,0	20	1	5,0	20	16	80,0
	Total	60	3	5,0	59	1	1,7	59	47	79,7

(continuação)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		Número de Amostras			Número de Amostras			Número de Amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
Santa Maria das Barreiras	47	20	2	10,0	20	0	0	20	18	90,0
	48	20	2	10,0	20	0	0	20	18	90,0
	49	19	2	10,5	19	1	5,0	19	15	78,9
	50	20	2	10,0	20	1	5,0	20	13	65,0
	51	20	2	10,0	20	1	5,0	20	16	80,0
	Total	99	10	10,1	99	3	3,1	99	80	80,8
Santana do Araguaia	94	20	5	25,0	20	0	0	20	9	45,0
	95	20	5	25,0	20	0	0	-	-	-
	96	20	4	20,0	20	0	0	20	14	70,0
	97	20	1	5,0	20	0	0	20	0	0
	Total	80	15	18,7	80	0	0	60	23	38,3
Santarém	1	20	3	15,0	20	0	0	20	18	90,0
	2	20	4	20,0	20	0	0	20	13	65,0
	3	20	6	30,0	20	0	0	20	19	95,0
	4	20	4	20,0	20	0	0	20	15	75,0
	5	20	2	10,0	20	0	0	20	16	80,0
	Total	100	19	19,0	100	0	0	100	81	81,0
São Domingos do Araguaia	132	20	5	25,0	20	2	10,0	20	11	55,0
	133	20	4	20,0	20	2	10,0	20	17	85,0
	Total	40	9	22,5	40	4	10,0	40	28	70,0
São Felix do Xingu	7	20	3	15,0	20	1	5,0	20	10	50,0
	8	17	0	0	17	0	0	17	9	52,9
	9	20	4	20,0	20	2	10,0	20	14	70,0
	10	18	1	5,6	18	0	0	18	13	72,2
	11	20	4	20,0	20	0	0	20	16	80,0
	12	20	2	10,0	20	0	0	20	17	85,0
	13	20	3	15,0	20	1	5,0	20	14	70,0
	14	20	4	20,0	20	2	10,0	20	12	60,0
	15	15	2	13,3	15	0	0	15	12	80,0
	Total	170	23	13,5	170	6	3,5	170	117	68,8
São Geraldo do Araguaia	65	20	2	10,0	20	1	5,0	20	13	65,0
	66	20	0	0	20	3	15,0	20	12	60,0
	67	16	2	12,5	16	0	0	16	11	68,8
	68	20	2	10,0	20	1	5,0	20	9	45,0
	69	20	7	35,0	20	1	5,0	20	13	65,0
Total	96	13	13,5	96	6	6,3	96	58	60,4	

(conclusão)

Município	Propriedade	<i>Neospora caninum</i>			<i>Brucella abortus</i>			<i>Leptospira spp.</i>		
		Número de Amostras			Número de Amostras			Número de Amostras		
		Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%	Examinadas	Positivas	%
São João do Araguaia	170	-	-	-	20	0	0	20	13	65,0
	Total	-	-	-	20	0	0	20	13	65,0
Soure	174	20	1	5,0	20	0	0	20	19	95,0
	Total	20	1	5,0	20	0	0	20	19	95,0
Tailândia	150	20	3	15,0	20	2	10,0	20	15	75,0
	Total	20	3	15,0	20	2	10,0	20	15	75,0
Tomé-Açu	171	20	4	20,0	20	0	0	20	15	75,0
	172	20	0	0	20	2	10,0	20	15	75,0
	Total	40	4	10,0	40	2	5,0	40	30	75,0
Trairão	166	20	5	25,0	20	0	0	20	10	50,0
	Total	20	5	25,0	20	0	0	20	10	50,0
Tucumã	70	20	0	0	20	0	0	20	9	45,0
	71	20	2	10,0	20	0	0	20	18	90,0
	72	20	1	5,0	20	0	0	20	18	90,0
	73	20	1	5,0	20	1	5,0	20	17	85,0
	Total	80	4	5,0	80	1	1,3	80	62	77,5
Ulianópolis	167	20	1	5,0	20	0	0	20	7	35,0
	Total	20	1	5,0	20	0	0	20	7	35,0
Uruará	57	20	1	5,0	20	4	20,0	20	10	50,0
	58	20	1	5,0	20	1	5,0	20	12	60,0
	59	20	1	5,0	20	0	0	20	13	65,0
	60	20	0	0	20	1	5,0	20	10	50,0
	61	20	3	15,0	20	1	5,0	20	9	45,0
	Total	100	7	7,0	100	7	7,0	100	54	54,0
Vitória do Xingú	142	20	0	0	20	4	20,0	20	18	90,0
	143	20	1	5,0	20	1	5,0	20	19	95,0
	Total	40	1	2,5	40	5	2,5	40	37	92,5
Xinguara	98	20	3	15,0	-	-	-	-	-	-
	99	20	1	5,0	-	-	-	-	-	-
	Total	40	4	10,0	-	-	-	-	-	-
Total	176	3428	503	14,7	3391	124	3,7	3371	2208	65,5

Tabela 6 – Distribuição da frequência de títulos de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de 174 municípios do Estado do Pará – 2008-2009

Título	Número de amostras	%
100	86	17,1
200	91	18,1
400	104	20,7
800	124	24,6
1600	71	14,1
3200	12	2,4
6400	6	1,2
12800	4	0,8
25600	4	0,8
51200	1	0,2
TOTAL	503	100

A porcentagem válida da ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* por propriedade foi de 87,4%, com 152 propriedades apresentando pelo menos um animal reagente. Das 29 propriedades de produção mista, 27 (93,1%) apresentaram animais sororeagentes, 48 (90,6%) propriedades leiteiras e 92 (83,7%) propriedades de corte também apresentaram pelo menos um animal reagente (Tabela 7).

A ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos das propriedades estudadas no estado do Pará foi de 14,7% (503/3428) com 13,9, 17,1 e 12,7% de frequência respectivamente para corte, leite e mista (Tabela 7).

Tabela 7 – Distribuição da frequência de bovinos soropositivos para neosporose procedentes de 174 propriedades do Estado do Pará, segundo o tipo de exploração animal – 2008

Aptidão	Propriedade			Animal		
	Número	Positivos	%	Número	Positivos	%
Corte	92	77	83,7	1822	253	13,9
Leite	53	48	90,6	1039	178	17,1
Mista	29	27	93,1	567	72	12,7
	174	152	87,4	3428	503	14,7

5.4 Sorologia para *Brucella abortus*

Os resultados individuais verificados a partir da pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus* através das técnicas do AAT, SAL e 2-ME nas amostras de soro sanguíneo dos animais provenientes de 172 propriedades dos 57 municípios analisados neste estudo estão representados na tabela 5.

Do total de bovinos testados, 410 (12,1%) reagiram ao AAT e, a partir desta triagem, 124 reagiram a SAL e ao 2-ME. A tabela 8 demonstra a relação de títulos de anticorpos anti-*B. abortus* observada nas vacas estudadas.

Tabela 8 – Distribuição da frequência de títulos de anticorpos anti-*Brucella abortus* em 142 bovinos soropositivos ao AAT provenientes de 172 propriedades do Estado do Pará, pelos testes de SAL e 2-ME – 2008

Título	Número de animais positivos (%)	
	SAL	2-ME
25	9 (7,3)	11 (8,9)
50 Incompleto	5 (4,0)	17 (13,7)
50	20 (16,1)	19 (15,3)
100 Incompleto	8 (6,5)	14 (11,3)
100	43 (34,7)	30 (24,2)
200 Incompleto	7 (5,6)	6 (4,8)
200	32 (25,8)	27 (21,8)
Total	124 (100,0)	124 (100,0)

A porcentagem válida da ocorrência de brucelose bovina por propriedades foi de 41,3%, com 71 das 172 propriedades examinadas apresentando pelo menos um animal positivo. Quatorze (48,3%) propriedades mistas, 22 (41,5%) de leite e 35 (38,9%) produtoras de bovinos de corte apresentaram ao menos um animal reagente.

A ocorrência de brucelose em bovinos das propriedades estudadas no estado do Pará foi de 3,7% (124/3391). A tabela 9 apresenta a frequência de bovinos positivos segundo a exploração animal.

Tabela 9 – Distribuição da frequência de bovinos soropositivos para brucelose procedentes de 172 propriedades do Estado do Pará, segundo o tipo de exploração animal – 2008

Aptidão	Propriedade			Animal		
	Número	Positivos	%	Número	Positivos	%
Corte	90	35	38,9	1786	68	3,8
Leite	53	22	41,5	1039	34	3,3
Mista	29	14	48,3	566	22	3,9
	172	71	41,3	3391	124	3,7

5.5 Sorologia para *Leptospira* spp.

Os resultados individuais obtidos na pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp, pelo emprego da SAM nas amostras de soro sanguíneo dos animais das 171 propriedades rurais utilizadas neste estudo encontram-se na tabela 5. A tabela 10 apresenta a relação de títulos de anticorpos anti-*Leptospira* spp. por sorovariedades, nos animais soropositivos. A tabela 11 apresenta o número e a porcentagem de rebanhos acometidos por diferentes sorovares e do sorovar de *Leptospira* spp com maior probabilidade de causar a infecção nos animais.

O sorovar Javanica não apresentou reações aos 3371 bovinos testados pela SAM.

Tabela 10 – Distribuição da frequência de títulos de anticorpos anti-*Leptospira* spp. por sorovarietades em bovinos de 171 propriedades rurais do Estado do Pará, pela técnica SAM – 2009

Sorovares	Títulos								Total
	50	100	200	400	800	1600	3200	>3200	
Hardjo	332	466	439	314	191	79	30	23	1874
Wolffi	299	325	224	137	49	14	5	2	1055
Grippotyphosa	-	96	98	85	53	18	8	4	362
Hebdomadis	-	106	52	18	6	-	-	-	182
Shermani	-	49	44	21	4	-	-	-	118
Australis	-	46	19	7	2	-	-	-	74
Pomona	-	33	16	15	4	1	-	-	69
Autumnalis	-	43	13	8	2	-	-	-	66
Tarassovi	-	28	15	7	-	-	-	-	50
Copenhageni	-	19	9	8	1	-	-	-	37
Bratislava	-	26	4	2	-	-	-	-	32
Castellonis	-	12	8	1	-	-	-	-	21
Canicola	-	7	7	-	1	-	-	1	16
Pyrogenes	-	7	8	-	-	-	-	-	15
Butembo	-	7	4	1	-	-	-	-	12
Icterohaemorrhagiae	-	9	1	1	-	-	-	-	11
Panama	-	5	2	1	-	-	-	-	8
Sentot	-	3	1	-	-	-	-	-	4
Cynopteri	-	3	-	-	-	-	-	-	3
Bataviae	-	2	1	-	-	-	-	-	3
Whitcombi	-	2	1	-	-	-	-	-	3
Total	631	1294	966	626	313	112	43	30	4015

Tabela 11 – Número e porcentagem dos sorovares de *Leptospira* spp. em 171 propriedades e prováveis sorovares responsáveis pela infecção em animais positivos pela técnica SAM – Pará – 2009 (continua)

Sorovar	Propriedade positiva		Animal Positivo	
	Número	%	Número	%
Hardjo	152	89	1404	63,58
Grippotyphosa	99	58	230	10,41
Hardjo + Wolffi	-	-	152	6,88
Wolffi	146	85	78	3,53
Hebdomadis	63	37	52	2,35
Shermani	42	24	46	2,08
Australis	39	23	42	1,90
Hardjo + Grippotyphosa	-	-	33	1,49
Pomona	29	17	32	1,44
Tarassovi	25	16	17	0,76
Autumnalis	25	16	11	0,49
Hardjo + Shermani	-	-	11	0,49
Copenhageni	21	12	8	0,36
Castellonis	14	8	6	0,26
Hardjo + Pomona	-	-	5	0,22
Hardjo + Australis	-	-	5	0,22
Canicola	11	6	4	0,18
Hardjo + Hebdomadis	-	-	4	0,18
Hardjo + Wolffi + Hebdomadis	-	-	4	0,18
Bratislava	21	12	3	0,13
Pyrogenes	8	5	3	0,13
Hardjo + Autumnalis	-	-	3	0,13
Hardjo + Copenhageni	-	-	3	0,13
Hardjo + Wolffi + Shermani	-	-	3	0,13
Grippotyphosa + Copenhageni	-	-	3	0,13
Panama	6	4	2	0,09
Whitcombi	2	1	2	0,09
Hardjo + Tarassovi	-	-	2	0,09
Hardjo + Wolffi + Grippotyphosa	-	-	2	0,09
Wolffi + Hebdomadis	-	-	2	0,09
Grippotyphosa + Autumnalis	-	-	2	0,09
Shermani + Tarassovi	-	-	2	0,09
Pomona + Autumnalis + Copenhageni	-	-	2	0,09
Butembo	11	6	1	0,05
Sentot	5	3	1	0,05
Hardjo + Wolffi + Autumnalis	-	-	1	0,05
Hardjo + Wolffi + Tarassovi	-	-	1	0,05
Hardjo + Hebdomadis + Tarassovi	-	-	1	0,05
Hardjo + Wolffi + Copenhageni + Bratislava	-	-	1	0,05
Hardjo + Bratislava + Tarassovi	-	-	1	0,05

Sorovar	(conclusão)			
	Propriedade positiva		Animal positivo	
	Número	%	Número	%
Hardjo + Castellonis + Pomona	-	-	1	0,05
Hardjo + Grippytyphosa + Autumnalis	-	-	1	0,05
Hardjo + Autumnalis + Bratislava + Castellonis	-	-	1	0,05
Hardjo + Panama	-	-	1	0,05
Hardjo + Icterohaemorhagiae	-	-	1	0,05
Hardjo + Bratislava	-	-	1	0,05
Hardjo + Sentot	-	-	1	0,05
Grippytyphosa + Australis	-	-	1	0,05
Grippytyphosa + Castellonis	-	-	1	0,05
Grippytyphosa + Pomona	-	-	1	0,05
Grippytyphosa + Hebdomadis	-	-	1	0,05
Wolffi + Shermani	-	-	1	0,05
Wolffi + Autumnalis	-	-	1	0,05
Pomona + Copenhageni	-	-	1	0,05
Pomona + Autumnalis + Panama	-	-	1	0,05
Pomona + Autumnalis	-	-	1	0,05
Australis + Shermani	-	-	1	0,05
Australis + Brastislava	-	-	1	0,05
Shermani + Brastislava	-	-	1	0,05
Hebdomadis + Tarassovi	-	-	1	0,05
Hebdomadis + Whitcombi	-	-	1	0,05
Autumnalis + Copenhageni	-	-	1	0,05
Canicola + Sentot	-	-	1	0,05
Icterohaemorrhagiae	7	4	-	-
Cynopteri	3	2	-	-
Bataviae	3	2	-	-

A porcentagem válida da ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp por propriedade foi de 98,8%, com 169 das 171 propriedades apresentando pelo menos um animal sororeagente. Todas as propriedades leiteiras e de produção mista e 87 (97,8%) de corte apresentaram ao menos um animal positivo.

A ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp em bovinos das propriedades avaliadas nos municípios deste estudo foi de 65,5% (2208/3371). Os resultados da sorologia obtidos por exploração animal estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12 – Distribuição de frequência de bovinos soropositivos para leptospirose na técnica SAM procedentes de 171 propriedades do Estado do Pará, segundo exploração animal – 2008

Aptidão	Propriedade			Animal		
	Número	Positivos	%	Número	Positivos	%
Corte	89	87	97,8	1766	1167	66,1
Leite	53	53	100,0	1039	686	66,0
Mista	29	29	100,0	566	355	62,7
	171	169	98,8	3371	2208	65,5

5.6 Análise estatística univariada

Foi realizado o estudo de associação entre cada agente e as variáveis observadas nos questionários de cada propriedade.

5.6.1 *Neospora caninum*

O resultado da análise de associação entre propriedades classificadas como positivas e as variáveis estudadas está apresentado na tabela 13. Foi observada associação positiva entre ocorrência de *N. caninum* e presença de abortamentos.

Tabela 13 – Análise de associação univariada das características das propriedades e presença de animais soropositivos na prova de RIFI para *N. caninum* – Pará – 2008 (continua)

Variável	Propriedades			X ²	p
	Número	Positivas	%		
Fonte de água					
Natural	112	96	85,7	0,134	1,000
Artificial	26	23	88,5		
Cão					
Presente	143	124	86,7	0,378	0,540
Ausente	23	21	91,3		

Variável	Propriedades			X ²	p
	Número	Positivas	%		
Exploração					
Corte	92	77	83,7	2,478	0,290
Leite	53	48	90,6		
Mista	29	27	93,1		
Assistência Veterinária					
Sim	41	38	92,7	0,088	1,000
Não	44	40	90,9		
Raça					
CRD	72	61	84,7	1,030	0,310
SRD	90	81	90,0		
Compra de touros					
Sim	68	63	92,6	1,251	0,263
Não	16	16	100,0		
Usa pasto alugado					
Sim	32	28	87,5	0,0	1,000
Não	48	42	87,5		
Aluga pastos					
Sim	6	6	100,0	0,877	1,000
Não	62	54	87,1		
Divide pasto com outras espécies					
Sim	91	76	83,5	2,017	0,136
Não	41	38	92,7		
Áreas alagadas					
Presença	63	59	93,6	2,647	0,104
Ausência	58	49	84,5		
Uso da mesma agulha na vacinação					
Sim	120	104	86,7	0,111	0,739
Não	32	27	84,4		
Destino das carcaças					
Adequado	79	67	84,8	0,498	0,480
Inadequado	71	63	88,7		
Reprodução					
Monta Natural	113	98	86,7	0,150	0,698
Inseminação Artificial	38	32	84,2		
Abortamentos					
Presença	108	99	91,7	5,275	0,022
Ausência	52	41	78,8		
Destino de vacas que abortam					
Adequado	51	44	86,3	2,048	0,248
Inadequado	28	27	96,4		

Variável	Propriedades			X ²	p
	Número	Positivas	%		
Destino dos abortos					
Adequado	15	13	86,7	0,513	0,608
Inadequado	66	61	92,4		

5.6.2 *Brucella abortus*

A análise de associação entre propriedades classificadas como positivas e as variáveis estudadas revelou existência de associação com a destinação inadequada dos abortos e o tipo de reprodução, neste último caso sendo a ocorrência de *B. abortus* associada com a realização de inseminação artificial nas propriedades. As análises univariadas estão apresentadas na tabela 14.

Tabela 14 – Análise de associação univariada das características das propriedades e presença de animais soropositivos nas provas de SAL e 2-ME para *B.abortus* – Pará – 2008 (continua)

Variável	Propriedades			X ²	p
	Número	Positivas	%		
Fonte de água					
Natural	109	48	44,0	0,433	0,510
Artificial	27	10	37,0		
Cão					
Presente	141	63	44,7	2,805	0,094
Ausente	23	6	26,1		
Exploração					
Corte	90	35	38,9	0,799	0,671
Leite	29	14	48,3		
Mista	53	22	41,5		
Assistência Veterinária					
Sim	38	12	31,6	1,958	0,162
Não	45	21	46,7		
Raça					
CRD	70	24	34,3	2,073	0,150
SRD	90	41	45,5		

Variável	Propriedades			X ²	p
	Número	Positivas	%		
(conclusão)					
Compra de touros					
Sim	65	31	47,7	1,828	0,176
Não	17	5	29,4		
Usa pasto alugado					
Sim	32	12	37,5	0,005	0,943
Não	47	18	38,3		
Aluga pastos					
Sim	6	4	66,7	2,154	0,197
Não	61	22	36,1		
Divide pasto com outras espécies					
Sim	90	42	46,7	0,194	0,660
Não	40	17	42,5		
Áreas alagadas					
Presença	60	28	46,7	3,030	0,082
Ausência	58	18	31,0		
Vacina contra brucelose					
Sim	147	62	42,2	1,806	0,179
Não	13	3	23,1		
Uso da mesma agulha na vacinação					
Sim	118	47	39,8	0,160	0,689
Não	32	14	43,8		
Destino das carcaças					
Adequado	76	38	50,0	4,975	0,026
Inadequado	72	23	31,9		
Reprodução					
Monta Natural	113	54	47,8	10,993	0,001
Inseminação Artificial	36	6	16,7		
Abortamentos					
Presença	105	45	42,9	0,151	0,697
Ausência	53	21	39,6		
Destino de vacas que abortam					
Adequado	51	21	41,2	0,349	0,555
Inadequado	27	13	48,1		
Destino dos abortos					
Adequado	15	2	13,3	5,212	0,022
Inadequado	64	29	45,3		

5.6.3 *Leptospira* spp.

Na análise entre as propriedades classificadas como positivas e as variáveis estudadas não foi observada nenhuma associação com a ocorrência de *Leptospira* spp. em geral, conforme apresentado na tabela 15.

Tabela 15 – Análise de associação univariada das características das propriedades e presença de animais soropositivos na técnica de SAM para *Leptospira* spp. – Pará – 2008 (continua)

Variável	Propriedades		X ²	p
	Número	Positivas %		
Fonte de água				
Natural	108	107	1,142	0,361
Artificial	27	26		
Cão				
Presente	140	138	0,333	1,000
Ausente	23	23		
Exploração				
Corte	89	87	1,865	0,394
Leite	53	53		
Mista	29	29		
Assistência Veterinária				
Sim	37	36	1,231	0,267
Não	45	45		
Raça				
CRD	69	68	0,036	1,000
SRD	90	89		
Compra de touros				
Sim	65	65	4,113	0,198
Não	16	15		
Usa pasto alugado				
Sim	32	32	-	-
Não	47	47		
Aluga pastos				
Sim	6	6	-	-
Não	61	61		
Divide pasto com outras espécies				
Sim	90	89	0,437	1,000
Não	39	39		

Variável	Propriedades			X ²	p
	Número	Positivas	%		
Áreas alagadas					
Presença	60	58		1,933	0,496
Ausência	57	57			
Uso da mesma agulha na vacinação					
Sim	117	115		0,554	1,000
Não	32	32			
Destino das carcaças					
Adequado	76	75		0,002	1,000
Inadequado	71	70			
Reprodução					
Monta Natural	113	113		6,546	0,055
Inseminação Artificial	35	33			
Abortamentos					
Presença	104	102		1,032	0,550
Ausência	53	53			
Destino de vacas que abortaram					
Adequado	51	49		1,087	0,541
Inadequado	27	27			
Destino dos abortos					
Adequado	15	15		0,237	1,000
Inadequado	64	63			

Porém, analisando-se somente a ocorrência de alguns sorovares mais freqüentes e importantes em separado, a análise demonstra presença de associação entre a sorovariedade Hardjo e o tipo de reprodução, neste caso representado pela inseminação artificial ($X^2 = 9,821$ e $p = 0,006$); entre a sorovariedade Grippytyphosa e a presença de cães ($X^2 = 5,242$ e $p = 0,022$); e a sorovariedade Hebdomadis e a destinação inadequada das vacas que abortaram ($X^2 = 8,172$ e $p = 0,004$).

Por fim, como pode ser visto na tabela 16, também foi feita análise da ocorrência cruzada entre os três agentes estudados, além de mais cinco sorovares importantes de *Leptospira* spp. Somente foi observada associação entre a ocorrência de *Leptospira* spp sorovariedade Wolffi com a ocorrência da sorovariedade Grippytyphosa.

Tabela 16 – Análise de associação univariada da ocorrência dos agentes *N. caninum*, *B. abortus*, *Leptospira* spp. e seus principais sorovares (Hardjo, Wolffi, Grippytyphosa, Hebdomadis e Pomona) entre si nas propriedades analisadas dos municípios do Pará – 2008

Agente	<i>N. caninum</i>	<i>Leptospira</i> spp	Hardjo	Wolffi	Grippytyphosa	Hebdomadis	Pomona
<i>B. abortus</i>	X ² = 0,338 p = 0,561	X ² = 1,437 p = 0,512	X ² = 0,010 p = 1,000	X ² = 0,004 p = 0,948	X ² = 0,160 p = 0,689	X ² = 0,006 p = 0,937	X ² = 0,055 p = 0,814
<i>N. caninum</i>	-	X ² = 0,287 p = 1,000	X ² = 0,057 p = 1,000	X ² = 0,333 p = 0,473	X ² = 0,399 p = 0,527	X ² = 0,146 p = 0,703	X ² = 0,603 p = 0,540
Hardjo	-	-	-	X ² = 0,001 p = 1,000	X ² = 0,003 p = 1,000	X ² = 0,329 p = 0,742	X ² = 1,022 p = 0,389
Wolffi	-	-	-	-	X²= 4,060 p = 0,044	X ² = 0,994 p = 0,319	X ² = 1,262 p = 0,328
Grippytyphosa	-	-	-	-	-	X ² = 1,543 p = 0,214	X ² = 0,762 p = 0,383
Hebdomadis	-	-	-	-	-	-	X ² = 1,461 p = 0,227

5.7 Análise estatística bicaudal

A avaliação das variáveis quantitativas (área das propriedades, número de animais no rebanho, número de cães e número de abortamentos por ano na propriedade) com a ocorrência das enfermidades nas propriedades consideradas positivas utilizando o teste de Mann-Whitney revelou associação do sorovar Hardjo com todas as variáveis ($p = 0,001$, $0,004$, $0,029$ e $0,023$, respectivamente) e do sorovar Grippotyphosa com o número de abortamentos ($p = 0,043$).

6 DISCUSSÃO

A princípio, este estudo foi desenhado para ser um inquérito de soroprevalência e levantamento de fatores de risco para três importantes enfermidades causadoras de aborto (neosporose, brucelose e leptospirose) em bovinos do Estado do Pará. Porém, dois grandes problemas levaram à reconsideração para que a abordagem se limitasse somente a um estudo de ocorrência e análise de variáveis associadas à presença de anticorpos contra os agentes. Em primeiro lugar, porque não foi possível realizar a colheita de amostras de várias propriedades em municípios previamente considerados como significativos para participação no estudo, devido à dificuldade de acesso nesses locais e/ou condições climáticas adversas na ocasião das visitas. Assim, houve déficit de propriedades em municípios que deveriam ser representados e superávit de propriedades em municípios cuja importância (peso) era menor, o que indica que as amostras não são representativas do Estado do Pará. Outro problema foi a impossibilidade de escolha aleatória dos indivíduos dentro de várias propriedades, pois, para facilitar o trabalho (propriedades muito extensas, animais pouco manejados), muitas vezes os animais já se encontravam separados em um piquete para a colheita das amostras. Na análise de fatores de risco, e mesmo para a análise de associação de variáveis para ocorrência das enfermidades, isso pode representar um efeito de viés e, por isso, a amostragem foi considerada de conveniência. Assim, os resultados obtidos neste estudo não podem servir como inferência para o estado todo, somente para as propriedades analisadas.

De qualquer forma, o presente inquérito traz resultados importantes, por se tratar de uma região pouco estudada, mas que representa 15% do território nacional e está em franca expansão agropecuária. Até o momento, as ações na área de sanidade no estado paraense foram limitadas ao controle da febre aftosa e vacinação contra brucelose. Também deve ser ressaltado que a maioria dos municípios da região Centro-Sul do Estado tiveram propriedades visitadas e essa região possui 67% das propriedades rurais com bovinos, que representam 76% do rebanho total do Estado.

Com relação aos resultados obtidos com a sorologia para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* nos bovinos observou-se um resultado semelhante ao já encontrado por Guimarães Júnior et al. (2004) e um pouco menor do que a ocorrência relatada por Minervino et al. (2008) no Estado do Pará. Comparando-se com o que já foi relatado em outros estados do país, a ocorrência de 14,7% foi menor que a média de 23,6% observada em Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Paraná (RAGOZO et al., 2003) e bem abaixo dos 34,7% relatados no Estado de Pernambuco (SILVA et al., 2002). Por outro lado, a prevalência de 8,8% obtida no município de Monte Negro, em Rondônia (AGUIAR, 2004) foi bem menor. Considerando-se a prevalência por propriedades examinadas, que neste estudo foi de 87,4%, os resultados estão de acordo aos já apresentados em outros trabalhos, demonstrando uma grande dispersão do parasita nas bovinoculturas brasileiras (AGUIAR, 2004; MUNHOZ et al., 2006). A maior frequência de animais positivos foi observada nas propriedades leiteiras, assim como relatado por Aguiar (2004). No geral, a ocorrência se manteve no mesmo patamar do restante dos estudos realizados em bovinos no país, que demonstram uma prevalência média-alta da infecção. Não existem relatos da situação da infecção por *N. caninum* em bovinos nos estados e países vizinhos ao Pará para comparação. O Estado faz divisa ao sul e sudoeste com o Estado de Mato Grosso, ao sudeste com o Estado de Tocantins, ao oeste com o Estado do Amazonas e Roraima, ao leste com o Maranhão e ao norte com o Estado do Amapá, com a Guiana e com o Suriname.

Muitas variáveis já foram associadas como fatores de risco para ocorrência da neosporose, no entanto neste estudo somente a presença de abortamentos apresentou associação. Abortamentos normalmente são considerados como sintomas clínicos de enfermidades, e não um fator que contribua para sua causa, não devendo ser considerado como variável para associação com sua ocorrência. Entretanto, a atribuição de variável à condição abortamento é válida neste caso porque a presença de fetos abortados e restos de aborto contaminados que podem ser deixados no pasto favorecem a continuidade do ciclo de vida do parasita pelo aumento da probabilidade do hospedeiro definitivo (cão) ingeri-los (DUBEY, 2003). Por outro lado, a não verificação de mais associações com as variáveis estudadas pode ter ocorrido devido

ao grande número de amostras positivas em muitas propriedades. Nesse caso, para melhorar a análise, sugere-se a realização de estudos de caso-controle.

A ocorrência de anticorpos anti-*B. abortus* nos animais das propriedades analisadas neste estudo foi de 3,7% e distribuídos em 41,3% das propriedades, que são valores menores do que os observados em estudo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASÍLIA, 2006) para a região Norte e de outros autores para o Estado do Pará (HOMEM, 1999; MOLNÁR et al., 2000). Porém, são bastante similares aos resultados das sorologias obtidos em dois estudos realizados no Estado de São Paulo (KURODA, 2002; MURAKAMI, 2003). Analisando resultados de inquéritos sorológicos realizados nos estados vizinhos, observa-se que no Estado do Tocantins e no Mato Grosso as prevalências de anticorpos anti-*B. abortus* são mais altas (OGATA et al., 2009; NEGREIROS et al., 2009). Portanto, nas propriedades analisadas neste estudo a ocorrência de brucelose foi baixa, provavelmente pela aplicação eficiente das medidas preconizadas no PNCTB, amplamente seguido na região.

Nos países fronteiriços a prevalência de brucelose também é baixa (CORBETT et al., 1989). Segundo a OIE (2010), a Guiana e o Suriname não reportam ocorrência de brucelose causada por *B. abortus* desde 1995 e 2005, respectivamente, por isso é pouco provável que representem risco para o Estado do Pará.

A frequência de uso de inseminação artificial foi maior em propriedades com ocorrência de sorologia positiva para brucelose do que nas livres de animais positivos e isso está fortemente associado com a presença da doença nas fazendas ($p = 0,001$). A IA também foi considerada um fator de risco para ocorrência de brucelose nos estados do Espírito Santo, Sergipe e Mato Grosso do Sul (AZEVEDO et al., 2009; SILVA et al., 2009; CHATE et al., 2009). Isso demonstra a importância da realização constante dos exames laboratoriais, principalmente nos animais das centrais de inseminação, já que a presença de somente um touro contaminado pode ter como consequência a disseminação da bactéria para um grande número de fêmeas inseminadas. A IA é um importante procedimento para melhores rendimentos na produção animal e milhões de doses de sêmen bovino congelado são comercializadas anualmente no mundo. Por outro lado, a IA pode representar um risco simplesmente pelo fato de permitir a transmissão iatrogênica, de uma receptora contaminada para outra, quando se realiza o

procedimento de forma inadequada, sem a troca ou esterilização dos utensílios, que podem servir como fômites na cadeia epidemiológica da brucelose. Essa hipótese foi levantada baseando-se na observação de que quase 80% das propriedades não realizavam um cuidado sanitário básico durante a vacinação, a troca da agulha, e, portanto, essa falta de higiene poderia ocorrer durante a inseminação das fêmeas.

O destino inadequado dos produtos de abortamento foi uma variável associada à ocorrência de anticorpos anti-*B. abortus* neste estudo ($p = 0,022$), sendo que esse tipo de situação demonstra descaso com o manejo sanitário nas propriedades, podendo ser um fator de suspeita para ocorrência de brucelose e outras doenças reprodutivas.

Por fim, a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp em bovinos das propriedades analisadas foi bastante alta, de 65,5%, sendo que foi encontrado pelo menos um bovino positivo em quase todas as propriedades (98,8%), chegando a 100% nas propriedades de aptidão leite e corte, estando a bactéria, portanto, amplamente disseminada em território paraense. A sorovariedade mais freqüente foi Hardjo, e todos estes resultados estão de acordo com levantamentos previamente realizados no Estado do Pará (HOMEM, 1999; FAVERO, 2000). Levando-se em conta outros estados da federação, os resultados aqui obtidos somente não foram maiores do que a prevalência observada no Mato Grosso do Sul por Figueiredo et al. (2009) e por Vasconcellos et al. (1987) nesse mesmo estado e no Rio Grande do Sul. Nos estados vizinhos ao Pará, Favero (2000) observou freqüências menores no Tocantins, Maranhão e Mato Grosso (41,2%, 58,2% e 62,5%, respectivamente), mas que também são altas e, no caso do Mato Grosso, bem próximo ao observado neste estudo. Na Guiana não há relatos de leptospirose nos animais desde 1984, porém no Suriname a leptospirose é endêmica como no Brasil, com ocorrência de infecções clínicas confirmadas (OIE, 2010).

Nos animais das propriedades analisadas o sorovar Hardjo se estabeleceu como o mais adaptado aos bovinos, como ocorre no restante do Brasil (ELLIS, 1994; COSTA et al., 1998), mas sendo seguido pelo sorovar Grippotyphosa como responsável pela infecção nos animais, sorovariedade que é menos observada em bovinos nos estudos brasileiros e mais frequentemente em animais silvestres (VASCONCELLOS, 1987). Isso pode ser resultado da maior ocupação dos bovinos em áreas previamente ocupadas por animais silvestres, já que o desmatamento ilegal para a pecuária é uma constante

no estado, até já tendo levado a um embargo nacional à carne de bois e búfalos proveniente de regiões irregulares. Em 2009, o Sipam (Sistema de Proteção da Amazônia) analisou, através de imagens de radar, que os 14 municípios que mais desmataram foram Altamira, Brasil Novo, Cumaru do Norte, Dom Eliseu, Novo Progresso, Novo Repartimento, Paragominas, Rondon do Pará, São Félix do Xingu, Ulianópolis, Itupiranga, Marabá, Pacajá e Tailândia (AGÊNCIA PARÁ DE NOTÍCIAS, 2010). Todos eles tiveram propriedades analisadas neste estudo.

A associação das sorovariedades Hardjo e Wolffi foi a terceira mais verificada nos animais (6,9%) e isso pode ocorrer por elas pertencerem ao mesmo sorogrupo e, portanto, possuírem afinidades antigênicas (FAINE, 1982). A ocorrência de Wolffi de forma isolada mostrou-se bastante inferior à de Hardjo (Tabela 12), o que sugere uma maior frequência da reação cruzada entre esses dois sorovares.

A nomenclatura utilizada quando da citação da *Leptospira* spp sorovar Hardjo, sem mencionar a espécie, deve-se à falta de identificação da genoespécie circulante (*Leptospira santarosai* e *L. borgpetersenii* e as estirpes Hardjobovis e Hadjoprajitno) entre os rebanhos nacionais (CASTRO, 2006). Outra consideração que deve ser feita relaciona-se à determinação da sorovariedade responsável pela infecção, que pode ser denominada somente como a mais provável, pois a SAM não diferencia anticorpos residuais de doença pregressa daqueles de uma infecção recente, necessitando pelo menos duas tomadas sorológicas com intervalos de cerca de 20 dias para que seja observada a soroconversão ou a quadruplicação de títulos de aglutininas.

Os sorovares incidentais, não adaptados aos bovinos, aparecem em frequência baixa (*Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Copenhageni*, *Butembo*, *Sentot*, *Whitcombi*, etc), contudo a somatória de suas ocorrências pode aumentar sua relevância, pois são potenciais causadores de surtos de leptospirose nessa espécie, com quadro clínico severo. Dentre essas sorovariedades, destaca-se a *Pomona*, por sua elevada patogenicidade, causando icterícia, hemorragias, abortamento em fêmeas prenhes e morte.

Quanto à análise de variáveis associadas à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp também deve ser levado em consideração, como no caso do *N. caninum*, que os resultados podem ter sido mascarados pela grande quantidade de

positivos. No caso do tipo de reprodução, por exemplo, no rigor estatístico não houve significância da inseminação artificial com a ocorrência de *Leptospira* spp em geral, mas o resultado está muito próximo do limite, o que significa que existem problemas na região. Mas, analisando-se as sorovariedades foi comprovada a associação com Hardjo, que é o mais importante para os bovinos, assim como já observado por Castro (2006), que identificou a inseminação artificial (IA) como fator de risco para ocorrência de brucelose em bovinos do Estado de São Paulo. A leptospirose bovina é uma das doenças infecciosas que podem ser transmitidas pela IA já que a *Leptospira* spp consegue sobreviver às temperaturas de congelamento do sêmen e a obtenção de um produto com garantia ocorre somente em locais que realizam diagnóstico através de técnicas moleculares, como o PCR (HEINEMANN et al., 2000). Durante a quarentena em centrais de inseminação os touros devem ser submetidos a exames sanitários para várias doenças, incluindo a brucelose e a leptospirose (ALVAREZ, 2008), porém isso provavelmente não vem sendo feito de forma adequada nos locais de onde as propriedades obtêm o sêmen utilizado para inseminação.

A análise estatística também demonstrou associação da sorovariedade Grippytyphosa com a presença de cães nas propriedades, o que mostra que o cão pode estar atuando como suscetível à infecção e ajudando na disseminação deste sorovar ao entrar em contato com as mesmas áreas degradadas para formação de pastagens nas propriedades. Um estudo sorológico nesses animais poderia confirmar essa hipótese.

A sorovariedade Hebdomadis, que somente foi descrita como freqüente em bovinos por Mineiro et al. (2007), neste estudo aparece como o quinto mais freqüente e sua ocorrência foi associada com o destino incorreto de vacas que abortaram, que provavelmente são portadoras de estirpes menos freqüentes, acarretando sinais clínicos como o abortamento, e, por isso, deveriam ser separadas do restante do rebanho. Esse tipo de resultado reforça a importância da ampla composição da bateria antigênica na SAM.

Também foi verificada a associação da ocorrência entre os sorovares Wolffi e Grippytyphosa, o que mostra que nos bovinos das propriedades estudadas no Estado do Pará a sorovariedade Grippytyphosa é tão freqüente quanto os sorovares já

adaptados aos bovinos, como o Wolffi. Provavelmente, nesses locais, a existência de fatores de risco para a infecção de bovinos com esse sorovar é muito grande.

O Estado do Pará é uma região bastante propícia para a realização de programas sanitários para o controle de doenças em animais de produção, em virtude da presença de extensas barreiras naturais constituídas principalmente por florestas naturais, áreas de conservação florestal, igarapés e rios, que, associados à baixa ocupação humana e concentração de animais suscetíveis em regiões de divisa, facilitam sua proteção. Por isso, uma vez controladas as enfermidades infecto-contagiosas e estabelecidos planos de vigilância, dificilmente haverá nova instalação dos agentes. É possível analisar o fluxo das doenças pelo território utilizando como base a regionalização utilizada para o Programa de Erradicação da Febre Aftosa (PNEFA). A regionalização empregada é fundamentada na relação existente entre o predomínio geográfico dos sistemas de produção e a interdependência desses sistemas em relação ao processo de comercialização dos animais e de seus produtos e subprodutos. Cada um desses conjuntos de sistemas produtivos e comerciais (cria, recria e engorda), integrados em uma rede, configura um circuito pecuário mais ou menos independente em relação aos demais circuitos. Dentro de cada circuito, os sistemas de produção mencionados estão inter-relacionados em função de dependências de criação, que se manifestam através dos fluxos de comercialização. De forma sintética, pode-se dizer que há grande probabilidade do bovino completar todas as suas fases de produção (cria, recria, engorda e abate) dentro de um mesmo circuito pecuário (BRASÍLIA, 2004a). O Estado do Pará encontra-se no circuito Norte, que representa 42% do território nacional, portanto a maior preocupação com a entrada de animais doentes deve tomada com os estados vizinhos ao Pará. A princípio, a instalação das enfermidades acompanhou a ocupação do território do Pará, que ocorreu em dois sentidos geográficos distintos. Um, mais antigo, que remonta à época de colonização, representado pela ocupação por via fluvial, principalmente através dos rios que constituem a Bacia Amazônica. Encontram-se sob influência direta desta fase de ocupação as regiões norte e nordeste do Estado, com destaque para a capital Belém. O segundo, ocorrendo principalmente a partir das décadas de 60 e 70, está relacionado com os programas nacionais de interiorização, caracterizado pela abertura

de grandes trechos de rodovias, com destaque para as rodovias Transamazônica e Belém-Brasília. O Estado do Pará passou por um processo de expansão do setor agropecuário no final da década de 80 e na década de 90, caracterizando-se por ingresso de bovinos de diferentes regiões do país. Hoje, o intercâmbio de animais é reduzido, da região centro-sul do estado saem animais com objetivo de abate; animais para engorda só se movimentam dentro do estado, saindo da região central para a oeste (BRASÍLIA, 2004a).

Um importante fator que facilita o controle de ingresso de animais, além da pouca disponibilidade de vias de acesso, é representado pelo reduzido, ou quase inexistente, grau de dependência quanto ao ingresso de bovinos e de seus produtos, verificando-se, ao contrário, grandes excedentes de produção de carne e leite (ANUALPEC, 2009). Então, a implantação de medidas sanitárias específicas tem maiores chances de serem bem-sucedidas.

Por outro lado, essa autonomia também tem seus reveses, que já podem estar sendo observados: a elevada taxa de crescimento dos rebanhos bovinos (de 7% nas regiões Norte e Nordeste, a maior verificada nos últimos dez anos) também significa que houve aumento no número de animais suscetíveis. No caso da brucelose, isso pode não ter tido tanto impacto, pois o aumento foi acompanhado pelo incremento da cobertura vacinal. Mas, como a neosporose e a leptospirose não estão contempladas nos programas nacionais, foram negligenciadas e o aumento do número de animais significou desequilíbrio e aumento de prevalência.

Outra característica que deve ser levada em consideração é a presença de espécies que podem albergar os mesmo agentes causadores de enfermidades nos bovinos. No Pará, somente a espécie bovina apresenta expressão agroprodutiva, sendo que suínos e pequenos ruminantes são produzidos principalmente para consumo e comércio local, em sistemas de produção do tipo familiar ou como forma complementar de abastecimento interno nas propriedades de produção bovina (BRASÍLIA, 2004a). Por isso, não recebem a devida atenção com os cuidados de manejo sanitário, podendo funcionar como “reservatórios”, principalmente no caso da leptospirose. Por outro lado, como já discutido no caso da alta ocorrência observada para a sorovariedade

Grippotyphosa, a extensa fauna silvestre existente no Pará também poderia representar uma população reservatório para as enfermidades estudadas, como por exemplo, no caso de suídeos e ruminantes selvagens.

Os resultados obtidos neste estudo mostram números muito diferentes de provável freqüência da neosporose, brucelose e leptospirose, portanto a abordagem para o manejo dessas doenças nos rebanhos também deve ser diferente. No caso da brucelose os resultados são mais satisfatórios, mostrando que a doença segue de forma mais favorável para um plano de erradicação. Sem dúvida, isso se deve ao PNCTB, com a vacinação obrigatória das fêmeas entre 3 e 8 meses. Sugere-se que sejam mantidas as recomendações do MAPA, com vacinação das fêmeas bovinas e bubalinas e eliminação dos animais soropositivos dos rebanhos.

Já para neosporose e leptospirose, com altos níveis de ocorrência de anticorpos observados, devem ser urgentemente esquematizados planos de controle baseados em: notificação de casos clínicos; restrição e fiscalização de ingresso de animais; verificação de atividade dos agentes, baseados em estudos epidemiológicos constantes, inclusive nos estados vizinhos, para avaliação da situação; participação comunitária, com conscientização e capacitação permanentes; e cobertura vacinal. Este último tópico é controverso, já que a vacina contra neospora somente diminui a sintomatologia clínica, não impedindo a infecção do animal, então seu uso pode vir a ser considerado em rebanhos seriamente afetados e com abortamentos associados ao parasita, mas ainda assim não é preconizado. A vacina para leptospirose é mais eficaz, inclusive existe um produto nacional produzido para atender as necessidades específicas contra os sorovares mais prevalentes em território nacional, porém em propriedades com atuação de extensa gama de sorovares, como foi observado frequentemente neste estudo, o problema não seria totalmente suprido. Medidas de controle definitivas para neosporose ainda não foram definidas, portanto as ferramentas aqui sugeridas são provisórias e paliativas. No caso de ambas as enfermidades, o diagnóstico sorológico mostra-se essencial.

Esse tipo de programa pode ser atribuído às esferas governamentais. A infraestrutura organizacional e os processos operacionais do serviço veterinário oficial do Estado do Pará mostram-se adequados ao atendimento das necessidades dos

produtores rurais, haja vista sua atuação no PNEFA, portanto ele deve ser usado como meio de difusão do conhecimento e atuação no controle das enfermidades estudadas.

7 CONCLUSÕES

Frente aos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que:

- Comparando-se com outros estudos já realizados, nas propriedades analisadas foi observada uma ocorrência similar às registradas em outros estados brasileiros para anticorpos anti-*Neospora caninum*, uma ocorrência baixa de anticorpos anti-*Brucella abortus* e alta ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em bovinos.
- As infecções por *N. caninum* e *Leptospira* spp. estão disseminadas nas propriedades analisadas no Estado do Pará.
- A ocorrência de infecção pelos agentes *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* spp. foi associada com medidas inadequadas de manejo e sanidade nas propriedades analisadas (presença de abortamentos, inseminação artificial realizada de forma não apropriada, destino inadequado dos produtos de abortamento, presença de cães e destino inadequado de vacas que abortaram).
- A observação da sorovariedade Hardjo de *Leptospira* spp. como a mais freqüente entre os bovinos foi um resultado compatível com o observado em outros estudos realizados no restante do país.
- A sorovariedade Grippotyphosa sendo considerada a segunda mais provável causadora da infecção nos animais é um achado inédito e suas causas devem ser averiguadas em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Brucelosis. In:_____. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, OPS, 2003a. v. 1, p. 28-55.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Leptospirosis. In:_____. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, OPS, 2003b. v. 1, p. 175-185.

AGÊNCIA PARÁ DE NOTÍCIAS. **Pará**, [2010]. Disponível em: <http://www.agenciapara.com.br>. Acesso em: 24 mar. 2010.

AGUIAR, D. M. **Prevalência de anticorpos anti-Neospora caninum, anti-Brucella abortus e anti-Leptospira spp em bovinos da zona rural do município de Monte Negro, Rondônia: estudos de possíveis fatores de risco**. 2004, 118 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

ALONSO-ANDICOBERRY, C.; GARCIA-PEÑA, F. J.; PEREIRA-BUENO, J.; COSTAS, E.; ORTEGA-MORA, L. M. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. Seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 52, p.109-117, 2001.

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; PIETZ, D. E. **Las técnicas de laboratorios en la brucellosis**. 2. ed. Genebra: FAO/WHO, 1976.173 p.

ALTON, G. G.; MAW, J.; ROGERSON, B. A. Serological diagnosis of bovine brucellosis: an complement fixation, serum agglutination and rose Bengal test. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 51, p. 57-63, 1975.

ALVAREZ, R. H. **Considerações sobre o uso da inseminação artificial em bovinos**. Nova Odessa, 2008. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/Inseminacao/index.htm>. Acesso em: 12 jun. 2010.

ALVES, A. J. S.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; BAHIANSE, L.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 6-13, 2009. Suplemento, 1.

ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; MORAIS, Z. M. Influência dos fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 11-18, 1996.

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, B. C.; DUBEY, J. P.; HOFFMAN, R. L.; CONRAD, P. A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 198, p. 241-244, 1991.

ANUALPEC. ANUÁRIO PECUÁRIA BRASILEIRA. São Paulo:AgraFNP, 2009. 360 p.

ARAÚJO, V. E. M.; MOREIRA, E. C.; NAVEDA, L. A. B.; SILVA, J. A.; CONTRERAS, R. L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 4, p. 430-435, 2005.

AZEVEDO, S. S.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; SOUZA, A. C.; VASCONCELLOS, S. A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 1, p. 19-26, 2009.

BAHAMAN, A. R.; IBRAHIM, A. L. A review of leptospirosis in Malaysia. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 12, n. 2-3, p. 179-189, 1988.

BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; LAMOTHE, P.; SAUVÉ, R. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.218, p.1803-1806, 2001.

BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995-1997). **Theriogenology**, Stoneham, v. 52, p. 247-257, 1999.

BINDER, W. D.; MERMEL, L. A. Leptospirosis in an urban setting: case report and review of an emerging infectious disease. **The Journal of Emergency Medicine**, San Diego, v. 16, n. 6, p. 851-856, 1998.

BJERKÅS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming-sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, Berlin, v. 70, p. 271-275, 1984.

BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A.; RADOSTITS, O. M. **Clínica veterinária**, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 554 p.

BRASÍLIA. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Defesa Sanitária Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal**. 2001. Decreto nº2 de 16 de janeiro de 2001.

BRASÍLIA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Ampliação da zona livre de febre aftosa com vacinação: Estado do Acre, parte do Estado do**

Amazonas, e região centro-sul do Estado do Pará. Brasília: Departamento de Defesa Animal, 2004a. 207 p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 25 nov. 2008.

BRASÍLIA. Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Tabela de medidas agrárias não decimais.** [2004]b. Disponível em: <http://www.mda.gov.br>. Acesso em: 05 jul. 2009.

BRASÍLIA. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de Leptospirose.** 2. ed. 1995. 98 p.

BRASÍLIA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Sanitária Animal. **Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT).** 2006. 188 p.

BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p.166-171, 1996.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, Oxford, v.18, p. 546-552, 2002.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**, 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. 672 p.

CASTRO, V. **Estudo da soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil.** 2006. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CHATE, S. C.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; MORAES, G. M.; COSTA NETO, A. A.; MONTEIRO, L. A. R. C.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 46-55, 2009. Suplemento, 1.

COLE JUNIOR, J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL, A. R. Improved Microtechnique for the Leptospiral Microscopic Agglutination Test. **Applied Microbiology**, Washington, v. 25, p. 970-980, 1973.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F. E.; GONDIM, L. F. P.; WALD, V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.103, n. 3, p.195-202, 2002.

CORBELLINI, L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum*

seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 74, n. 2-3, p. 130-141, 2006.

CORBETT, W. T.; GUY, J.; LIEUW-A-JOE, R.; HUNTER, L.; GRINDEM, C.; LEVY, M.; CULLEN, J.; VAZ, V. Epidemiologic survey of bovine diseases in Suriname. **Bulletin of Pan American Health Organization**, Washington, v. 23, n. 4, p. 424-430, 1989.

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

COSTA, G. H. N.; CABRAL, D. D.; VARANDAS, N. P.; SOBRAL, E. A.; BORGES, F. A.; CASTAGNOLLI, K. C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*T. gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Semina**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 57-62, 2001.

COSTA, M. C. R.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; MARTINS, N. R. S. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, p. 11-17, 1998.

DE MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, p. 1647-1657, 1999.

DE MEERSCHMAN, F.; FOCANT, C.; BOREUX, R.; LECLIPTEUX, T.; LOSSON, B. Cattle neosporosis in Belgium: a case control study in dairy and beef cattle. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, p. 887-890, 2000.

DE NARDI JR, G. **Perfil sorológico de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em búfalas (*Bubalus bubalis*) vacinadas com tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e Membrana externa)**. 2005. 89 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

DELBEM, A. C. B. **Purificação, caracterização e avaliação da capacidade imunogênica do lipopolissacarídeos (LPS) de *Leptospira* spp. isolada no Brasil associado ao idróxido de alumínio ou monofosforil lipídeo A como adjuvantes**. 2004. 117 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

DIAS, R. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; LIMA, Z. M. B.; PAULIN, L. M. S.; GUNNEWIEK, M. F. K.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 118-125, 2009a. Suplemento, 1.

DIAS, R. A.; MÜLLER, E. E.; DIAS, R. A.; FREITAS, J. C.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; SILVA, M. C. P.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; GONÇALVES, V. S. P.;

- FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 66-76, 2009b. Suplemento, 1.
- DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 89, p. 42-56, 2003. Supplement.
- DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 84, p. 349-367, 1999.
- DUBEY, J. P.; ABBITT, B.; TOPPER, M. J.; EDWARDS, J. F. Hydrocephalus associated with *Neospora caninum* infection in a aborted bovine fetus. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburg, v.118, p.169-173, 1998.
- DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburg, v. 134, p. 267-289, 2006.
- DUBEY, J. P.; HARTLEY, W. J.; LINDSAY, D. S. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 197, p. 1043-1044, 1990.
- DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.193, p. 1259-1263, 1988.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 67, p. 1-59, 1996.
- DHALIWAL, G. S.; MURRAY, R. D.; DOBSON, H.; MONTGOMERY, J.; ELLIS, W. A. Reduced conception rates in dairy cattle associated with serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo infection. **Veterinary Record**, London, v. 3, p. 110-114, 1996.
- DYER, R. M.; JENKINS, M. C.; KWOK, O. C. H.; DOUGLAS, L. W.; DUBEY, J. P. Serological survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 90, p.171-181, 2000.
- ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 2, p. 411-421, 1984.
- ELLIS, W. A. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the taxonomy of *Leptospira*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 45, p. 872-874, 1995.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 10, p. 463-478, 1994.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. 2.ed. Geneva: World Health Organization, 1982. 171 p.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272 p.

FAVERO, A. C. M. **Estudo retrospectivo dos exames sorológicos de leptospirose realizados pelo laboratório de zoonoses bacterianas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no período de 1984 a 1997**. 2000, 115 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S. O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 123, n. 3-4, p. 161-166, 2004.

FIGUEIREDO, A. O.; PELLEGRIN, A. O.; GONÇALVES, V. S. P.; FREITAS, E. B.; MONTEIRO, L. A. R. C.; OLIVEIRA, J. M.; OSÓRIO, A. L. A. R. Prevalência e fatores de risco para leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 5, p. 375-381, 2009.

FRANCO, W. A. C.; BERGAMASCHI, D. P.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; SOUZA, S. L. P.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 115, p. 71-74, 2003.

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a Microtechnique to the Agglutination Test for Leptospiral Antibodies. **Applied Microbiology**, Washington, v. 13, p. 81-85, 1965.

GENOVEZ, M. E.; DEL FAVA, C.; CASTRO V.; GREGORY, L.; FERRARI, C. I. L.; LANÇA NETO, P.; SOUZA, M. R.; GOTTI, T. B.; OLIVEIRA, J. C. F.; PITUCO, E. M. Effect of *Leptospira* spp serovar Hardjo infection on reproduction of two beef Nelore herds with different serological status. In: WORLD BUIATRIC CONGRESS, 24., 2006, Nice. **Anais...** Austria: World Association for Buiatrics, 2006. CD-ROM.

GENNOVEZ, M. E.; SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M.; CASTRO, V.; FERRARI, C. I. L.; GRASSO, L. M. P. S.; CARDOSO, M. V. Polimerase Chain Reaction (PCR) as a fundamental tool in the diagnosis of endemic leptospirosis in a cattle herd. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 11., 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2001. p.190.

GENNARI, S. M.; RODRIGUES, A. A. R.; PAULA, V. S. O.; AGUIAR, D. M.; FUJII, T. U.; BUZETI, W. S.; MACHADO, R. Z.; DUBEY, J. P. Serological responses to *Neospora caninum* in experimentally and naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 129, n. 1-2, p. 21-24, 2005a.

GENNARI, S. M.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; CARDOSO, E. C. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Buballus bubalis*) from the northern region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 134, n. 1-2, p. 169-171, 2005b.

GIORGI, W.; TERUYA, J. M.; MACRUZ, R.; GENOVEZ, M. E.; SILVA, A. S.; BORGIO, F. Leptospirose em equinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Revista do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 47-53, 1981.

GONÇALVES, V. S. P.; DELPHINO, M. K. V. C.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; PORTO, T. B.; ALVES, C. M.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 6, p. 35-45, 2009a. Suplemento, 1.

GONÇALVES, V. S. P.; RIBEIRO, L. A.; CALDAS, R. A.; FRANCISCO, P. F. C.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; BORGES, J. R. J. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 14-18, 2009b. Suplemento, 1.

GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M.; ANDERSON-SPRECHER, R.C.; BJÖRKMAN, C.; LOCK, T.F.; FIRKINS, L.D.; GAO, L.; FISCHER, W.R. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.90, p.1394-1400, 2004a.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 34, p. 159-161, 2004b.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 86, p. 71-75, 1999.

GRASSO, L. M. P. S. **O combate à brucelose bovina**. Situação brasileira. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 112 p.

GRASSO, L. M. P. S.; CARDOSO, M. V. Brucelose bovina. **O Biológico**, São Paulo, v. 60, p. 71-79, 1998.

GUIMARÃES, M. C.; CÔRTE, J. A.; VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H. Epidemiologia e controle da leptospirose bovina: papel de portador e seu controle terapêutico. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 6/7, p. 21-34, 1982.

GUIMARÃES JUNIOR, J. S. **Neospora caninum em bovinos de exploração leiteira: soroprevalência, fatores de risco e comparação de técnicas sorológicas**. 2003. 119 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; SOUZA, S. L.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 124, n. 1-2, p. 1-8, 2004.

GUITIÁN, F. J.; GARCIA-PEÑA, F. J.; OLIVEIRA, J.; SANJUÁN, M. L.; YUS, E. Serological study of the frequency of leptospiral infections among dairy cows in farm with suboptimal reproductive efficiency in Galicia, Spain. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 80, p. 275-284, 2001.

HALL, C. A.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 128, p. 231-241, 2005.

HANSON, L. E. Leptospirosis in domestic animals: The public health perspective. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 181, n. 12, p. 1505-1509, 1982.

HATHAWAY, S. C. Leptospirosis in New Zealand: an ecological view. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 29, p. 109-112, 1981.

HATHAWAY, S. C.; LITTLE, T. W. A.; PRITCHARD, D. G. Problems associated with the serological diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in bovine populations. **Veterinary Record**, London, v. 119, p. 84-86, 1986.

HEINEMANN, M. B.; GARCIA, J. F.; NUNES, C. M.; GREGORI, F.; HIGA, Z. M. M.; VASCONCELLOS, S. A.; RICHTZENHAIN, L. J. Detection and differentiation of *Leptospira* spp. serovars in bovine semen by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 73, p. 261-267, 2000.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. A. European perspective in *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, p. 877-924, 2000.

HOMEM, V. S. F. **Brucelose, leptospirose e tuberculose em Uruará, PA, município da Amazônia oriental. Estudo da população bovina e humana**. 1999. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

HOSMER JR., D. W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: Wiley, 1989. 307 p.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . **Censo Agropecuário**, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 5 mar. 2009.

JENSEN, A. M.; BJÖRKMAN, C.; KJELDEN, A. M.; WEDDERKOOP, A.; WILLADSEN, C.; UGGLA, A.; LIND, P. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 40, p. 151-163, 1999.

KLEIN-GUNNEWIEK, M. F. C.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; GITTI, C. B.; PEREIRA, L. A.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 77-84, 2009. Suplemento, 1.

KMETY, E.; DIKKEN, H. **Classification of the species of *Leptospira interrogans* and the history of its serovars**. A history of the publication of the serovars of leptospire and a catalogue of their relationships. Groningen, Netherlands: University Press Groningen, 1993. 104 p.

KURODA, B. R. S. **Brucelose bovina na microrregião da Serra de Botucatu: prevalência da enfermidade e comparação entre cinco métodos diagnósticos**. 2002. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

LANGONI, H.; DE SOUZA, L. C.; DA SILVA, A. V.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PAES, A. C.; LUCHEIS, S. B. Incidence of leptospiral abortion in Brazilian dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 40, p. 271-275, 1999.

LAU, H. D.; TOURRAND, J. F.; VEIGA, J. B.; HOMEM, V. S. F.; SIMÃO NETO, M. Cattle health and public well being in frontier áreas of the Brazilian Amazon. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL HYGIENE, 9., 1997, Helsinki. **Anais...** Budapest: International Society for Animal Hygiene, 1997. p. 7.

LEON, L. L.; GARCIA, R. C.; DIAZ, C. O.; VALDEZ, R. B.; CARMONA, G. C.; VELAZQUEZ, B. L. Prevalence of leptospirosis in dairy cattle from small rural production units in Toluca Valley, State of Mexico. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1149, p. 292-295, 2008.

LISTA-ALVES, D.; PALOMARES-NAVEDA, R.; GARCIA, F.; OBANDO, C.; ARRIETA, D.; HOET, A. E. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual-purpose cattle herds in Venezuela. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 136, p. 347-349, 2006.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, London, v. 75, n. 3, p. 249-251, 2003.

LIRA, T. M. P. Epidemiologia da brucelose. **Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 8, p. 177-186, 1984.

LUNDERVOLD, M.; MILNER-GULLAND, E. J.; O'CALLAGHAN, C. J.; HAMBLIN, C.; CORTEYN, A.; MACMILLAN, A. P. A serological survey of ruminant livestock in Kazakhstan during post-soviet transitions in farming and disease control. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 45, p. 211-224, 2004.

MAGNINO, S.; VIGO, P. G.; FABBI, M. Isolation of a bovine *Neospora* from a newborn calf in Italy. **Veterinary Record**, London, v. 144, p. 456-456, 1999.

MARVULO, M. F. V.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; GROFF, A. C. M.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 6, p.93-102, 2009. Suplemento, 1.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 28, p. 1473-1479, 1998.

MEDINA, L.; CRUZ-VÁZQUEZ, C.; QUEZADA, T.; MORALES, E.; GARCIA-VÁZQUEZ, Z. Survey of *Neospora caninum* infection by nested PCR in aborted fetuses from dairy farms in Aguascalientes, Mexico. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 136, p. 187-191, 2006.

MELO, D. P.; SILVA, A. C.; ORTEGA-MORA, L. M.; BASTOS, S. A.; BOAVENTURA, C. M. Prevalence of antibodies anti-*Neospora caninum* in bovines from Anápolis and Goiânia microregions, Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 105-109, 2006.

MINEIRO, A. L. B. B.; BEZERRA, E. E. A.; VASCONCELLOS, S. A.; COSTA, F. A. L.; MACEDO, N. A. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.

MINERVINO, A. H. H. **Características do sistema produtivo de bovinos e bubalinos no município de Santarém, Pará**. 2004. 75 f. Monografia (Curso de Especialização em Produção e Saúde Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2004.

- MINERVINO, A. H. H.; RAGOZO, A. M.; MONTEIRO, R. M.; ORTOLANI, E. L.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Research in Veterinary Science**, London, v. 84, n. 2, p. 254-256, 2008.
- MOEN, A. R.; WOUDA, W.; MUL, M. F.; GRAAT, E. A.; VAN WERVEN, T. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. **Theriogenology**, Stoneham, v. 49, n. 7, p. 1301-1309, 1998.
- MOLNÁR, E.; MOLNÁR, L.; DIAS, H. L. T.; SOUSA, J. S.; VALE, W. G. Ocorrência de brucelose bovina no Estado do Pará confirmada por métodos sorológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 22, p. 117-121, 2000.
- MONTEIRO, L. A. R. C.; PELLEGRIN, A. O.; ISHIKAWA, M. M.; OSÓRIO, A. L. A. R. Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado do Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 217-222, 2006.
- MOORE, D. P.; CAMPERO, C. M.; ODEON, A. C.; POSSO, M. A.; CANO, D.; LEUNDA, M.R.; BASSO, W.; VENTURINI, M.C.; SPÄTH, E. Seroepidemiology of beef dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 107, p. 303-316, 2002.
- MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 101-104, 2006.
- MURAKAMI, T. O. **Epidemiologia da brucelose bovina nos municípios de Altinópolis e Santo Antônio da Alegria, estado de São Paulo: prevalência, fatores de risco e métodos de diagnóstico**. 2003. 78 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- MYERS, D. M. **Manual de métodos para eleição diagnóstico de laboratório de la leptospirosis**. Martinez: OPAS, Centro Panamericano de Zoonosis, 1985. Nota Técnica nº 30.
- NEGREIROS, R. L.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; GONÇALVES, V. S. P.; V. C. F.; SILVA, M. C. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FREITAS, J.; AMAKU, M. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Mato Grosso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p.56-65, 2009. Suplemento, 1.
- NIELSEN, K.; DUNCAN, R. **Animal brucellosis**. Boca Ratón: CRC Press, 1990. 453 p.

NOGUSHI, H. The survival of *Leptospira* (Spirochaeta) *icterohaemorrhagiae* in nature: Observations concerning microchemical reactions and intermediary hosts. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 27, p. 609-625, 1918.

OGATA, R. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; RODRIGUES, A. L.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Tocantins. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 126-134, 2009. Suplemento, 1.

OGAWA, L.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L. F. P.; NAVARRO, I. T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p. 312-316, 2005.

OLIVEIRA, A. A.; MOTA, R. A.; PEREIRA, G. C.; LANGONI, H.; SOUZA, M. I.; NAVEGANTES, W. A.; SÁ, M. E. Seroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns Municipal District, Pernambuco State, Brazil. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 68, n. 4, p. 275-279, 2001.

OMER, M. S.; SKERVE, E.; WOLDEHIWET, Z.; HOLSTAD, G. Risk factors for *Brucella* spp. infection in dairy capital farms in Asmara, State of Eritrea. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 46, p. 257-265, 2000.

OIE. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL PARA SAÚDE ANIMAL. **Animal diseases data**. Paris: Office International des Epizooties. 2010. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Acesso: em 09 jun. 2010.

OSHIRO, L. M.; MATOS, M. F.; DE OLIVEIRA, J. M.; MONTEIRO, L. A.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 133-138, 2007.

PARÁ. Portal do Governo do Estado do Pará. **O Pará**. Belém: Governo do Estado do Pará. [2010]. Disponível em: <http://www.pa.gov.br>. Acesso em: 29 mar. 2010.

PARISH, S. M.; MAAG-MILLER, L.; BESSER, T. E.; WEIDNER, J. P.; MCELWAIN, T.; KNOWLES, D. P.; LEATHERS, C. W. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 191, p. 1599-1600, 1987.

PATITUCCI, A. N.; PÉREZ, M. J.; ISRAEL, K. F.; ROZAS, M. A. Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* em dos rebaños lecheros de la IX región de Chile. **Ars Medicina Veterinaria**, Jaboticabal, v. 32, p. 209-214, 2000.

PAULA, V. S. O.; RODRIGUES, A. A. R.; RICHTZENHAIN, L. J.; CORTEZ, A.; SOARES, R. M.; GENNARI, S. M. Evaluation of a PCR based on primers to Nc5 gene

for the Detection of *Neospora caninum* in brain tissues of bovine aborted fetuses. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 28, n. 7, p. 581-585, 2004.

PETERS, M.; LÜTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 31, p. 1144-1148, 2001.

POLLETO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C.; BARCELLOS, L. J. G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 595-598, 2004.

RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S. O.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicine**. 9. ed. London: W.B. Saunders, 2000. 1877 p.

REBHUN, W. C. Leptospirosis. In: _____ **Diseases of dairy cattle**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. p. 472-474.

REICHEL, M. P. Prevalence of *Neospora* antibodies in New Zealand dairy cattle and dogs. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 46, p. 38, 1998.

RICHTZENHAIN, L. J.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; SOARES, R. M.; SAKAMOTO, S. M.; VASCONCELLOS, S. A.; HIGA, Z. M. M.; SCARCELI, E.; GENOVEZ, M. A multiplex PCR for the detection of *Brucella* spp. and *Leptospira* spp. DNA from aborted bovine fetuses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 139-147, 2002.

ROCHA, W. V.; GONÇALVES, V. S. P.; COLEHO, C. G. N. F. L.; BRITO, W. M. E. D.; DIAS, R. A.; DELPHINO, M. K. V. C.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; BRITO, L. A. B. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 27-34, 2009. Suplemento, 1.

SANDOVAL, L. A.; ARRUDA, N. M.; TERUYA, J. M.; GIORGI, W.; AMARAL, L. B. S.; MAZANTI, M. T. Pesquisas em bubalinos: prevalência da brucelose e leptospirose no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 45, n. 11-12, p. 209-212, 1979.

SANTA ROSA, C. A.; PESTANA DE CASTRO, A. F.; TROISE, C. Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de bovinos em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 28, p. 1113-1118, 1961.

SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M. Y.; CANAVESSI, A. M. O.; PINCKNEY, R. D. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos ELISA e RIFI, no município de Avaré, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 3-10, 2003.

SAWADA, M.; KONDO, H.; TOMIOKA, Y.; PARK, C. H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; UMEMURA, T. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. **Veterinary parasitology**, Amsterdam, v. 90, p. 247-252, 2000.

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F.J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 80, p. 87-98, 1998.

SIKUSAWA, S.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S.; MARTINS, C.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p.103-108, 2009. Suplemento, 1.

SILVA, M. I. S.; ALVES, L. C. A.; FAUSTINO, M. A. G.; ALMEIDA, M. A.; PINHEIRO, M. A.; JESUS, E. E. V.; CUNHA, A. P.; NASCIMENTO, E. S.; LIMA, M. M. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá, Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, CD-ROM.

SILVA, V. G. S. O.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; COSTA, E. L. S.; FIGUEIREDO, V. C. F.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Sergipe. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 109-117, 2009. Suplemento, 1.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. Barueri: Manole, 3. ed. 2006. 1784 p.

STENLUND, S.; KINDAHL, H.; UGGLA, A.; BJÖRKMAN, C. A long-term study of *Neospora caninum* infection in a Swedish dairy herd. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v.44, p.63-71, 2003.

STOBBE, N. S. **Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e a ocorrência de abortamentos em bovinos no Noroeste do Estado de São Paulo**. 1999. 33 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SULLIVAN, N. D. Leptospirosis in animals and man. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 50, n. 5, p. 216-223, 1974.

SULLIVAN, N. D.; CALLAN, D. P. Isolation of *Leptospira hardjo* from cows with mastitis. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 46, n. 11, p. 537-539, 1970.

TENÓRIO, T. G. S.; MELO, L. E. H.; VASCONCELLOS, S. A.; CASTRO, R. S.; SILVA, F. F.; LEITE, J. E. B.; RÊGO, E. W.; VAZ, B. B. U.; BORBA, M. A. C.; MELO, M. T.; CASTRO, V. B.; CAMPOS, K. M. T.; BERTO, R. S.; MENDES, E. I. Soroprevalência da brucelose e da leptospirose em rebanhos de bovinos leiteiros do estado de Pernambuco. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 11, n. 2, p. 43-48, 2005.

THIERMANN, A. B. Leptospirosis: current developments and trends. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 184, n. 6, p. 722-725, 1984.

THOMPSON, J. A.; LEITE, R. M. H.; GONÇALVES, V. S.; LEITE, R. C.; BANDEIRA, D. A.; HERRMANN, G. P.; MOREIRA, E. C.; PRADO, P. E.; LOBATO, Z. I.; DE BRITO, C. P.; LAGE, A. P. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 76, n. 3-4, p. 290-301, 2006.

VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose animal. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3., Rio de Janeiro, **Anais...** Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 1996. p. 62-66.

VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção da leptospirose na natureza. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 25-36, 1987.

VASCONCELLOS, S. A.; BARBARINI JÚNIOR, O.; UMEHARA, O.; MORAIS, Z. M.; CORTEZ, A.; PINHEIRO, S. R.; FERREIRA, F.; FÁVERO, A. C. M.; FERREIRA NETO, J. S. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de Janeiro a Abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 7-15, 1997.

VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H.; CÔRTEZ, J. A. Bases para a prevenção da brucelose animal. **Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 11, p. 25-36, 1987.

VEIGA, J. B.; TOURRAND, J. F.; QUANZ, D. A pecuária na fronteira agrícola da Amazônia. O caso do município de Uruará - PA na Transamazônica. **Boletim de Pesquisa da EMBRAPA-CPATU**, Belém, 1996. 61 p. (Documento, 87).

VILLAR, K. S.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S.; BENITEZ, F.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rondônia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 85-92, 2009. Suplemento, 1.

ANEXO A – Questionário submetido às 176 propriedades visitadas no Estado do Pará – 2008

Identificação

Código da propriedade	Proprietário
Endereço	
Data de visita	Latitude e longitude
Propriedade	

Perfil Propriedade e Proprietário

1. Início da atividade (ano): _____
2. Escolaridade do proprietário: () 1° grau () 2° grau () 3° grau
3. A bovinocultura é a principal atividade: () sim () não
4. Tipo de criação () corte () leite
5. Outras atividades econômicas na propriedade:
() avicultura () caprinocultura () ovinocultura
() equinocultura () agricultura
6. Área total da propriedade em hectares: _____
7. Área ocupada pela bovinocultura em hectares: _____

Exploração

1. Raça predominante: () Nelore () Mestiços
Outras _____
2. Finalidade da criação: () Cria () Recria () Engorda
3. Tipo de criação: () confinado () semi-confinado () extensivo
4. Qual a idade de descarte das matrizes?
5. Qual a idade de descarte do macho?
6. Número de animais: _____
Reprodutores: _____
Matrizes: _____
Crias: _____

7. Presença de outros animais na propriedade
- Ovinos: () sim () não
- Eqüinos: () sim () não
- Suínos: () sim () não
- Cães: () sim () não
- Gatos: () sim () não
- Cabras: () sim () não
8. Possui instalações específicas para a atividade: () sim () não
9. Número de currais: _____
10. Número de cabeças por curral: _____
11. Aspectos construtivos do curral: _____
- 11.1 Piso: _____
- 11.2 Estrutura: _____
- 11.3 Cobertura: _____
12. Faz algum tipo de seleção dos animais: () sim () não
- 12.1. Qual tipo de seleção: () por produção () sanitária () reprodução

Comércio

1. Compra de reprodutores: () exposição ou feiras () leilões () fazendas
2. Compra de matrizes: () exposição ou feiras () leilões () fazendas ()
() próprias
3. Origem dos machos: _____
4. Origem das fêmeas: _____
5. Venda de reprodutores: () exposição ou feiras () leilões () fazendas
6. Venda de matrizes: () exposição ou feiras () leilões () fazendas

Pastos

1. Aluga pasto de terceiros: () sim () não
2. Aluga pasto para terceiros: () sim () não
3. Compartilha pasto com terceiros: () sim () não

4. Divide pasto com outra espécie animal? () sim Qual? _____ () não
5. Existe piquete maternidade: () sim () não
6. Separa os animais por categoria: () sim () não
- 6.1. Quais categorias? _____
7. Faz rotação de pastos: () sim () não
8. Existem áreas alagadiças que os animais tem acesso: () sim () não
9. Número de animais por hectare: _____
10. Há reserva de mata / cerrado na propriedade: () sim () não

Sanidade

1. Vacina regularmente contra qual doença (Manqueira; Gangrena gasosa; Botulismo; Enterotoxemia; Tetano; Pneumonia; Raiva; Outras)
2. Usa anti-parasitário: () sim () não
3. Usa carrapaticida: () sim () não
4. Fornecimento de água aos animais:
() rio () açude () bebedouro () cacimba () poço
5. Possui assistência técnica: () sim () não
- 5.1. Qual a formação:
() veterinário () zootecnista () agrônomo () técnico agrícola
6. Qual o destino das carcaças dos animais mortos na propriedade:
() deixa no pasto () incinera/enterra
7. Fornece colostro aos animais () sim () não

Manejo reprodutivo

1. Divide machos por grupo de fêmeas: () sim () não
- 1.1. Qual relação macho/fêmea: _____
2. Tem notado problemas de fertilidade nas fêmeas: () sim () não
- 2.1. Quais: () repetição de cio () intervalo entre partos aumentado
3. Tem notado problema de fertilidade nos machos: () sim () não
4. Faz espermograma do sêmen: () sim () não

5. Faz diagnóstico de prenhez: () sim () não
- 5.1. Qual o método de diagnóstico? _____
6. Algum animal abortou nos últimos 12 meses: () sim () não
7. O que faz com o feto e placenta: () deixa no pasto () enterra () incinera
8. Usa de estação de monta: () sim () não
9. Empresta reprodutores? () sim () não
10. Usa reprodutores emprestados de outro criador: () sim () não

Índices produtivos

1. Taxa de natalidade:
2. Taxa de mortalidade
- 2.1. Até 4 dias: _____
- 2.2. Até desmame: _____
- 2.3. Matrizes: _____
3. Idade da primeira cobertura: _____
4. Frequência de natimorto: _____
5. Idade de desmame: _____
6. Idade ao 1º parto: _____

ANEXO B – Interpretação dos testes de SAL e 2-ME para brucelose em fêmeas bovinas vacinadas e não vacinadas

Fêmeas vacinadas entre 3 a 8 meses de idade, com idade \geq a 24 meses		
SAL	2-ME	Interpretação
≤ 50	< 25	Negativo
≥ 100	< 25	Suspeito
≥ 25	≥ 25	Positivo
Fêmeas não vacinadas com idade superior a 8 meses de idade		
SAL	2-ME	Interpretação
≤ 25	< 25	negativo
≥ 50	< 25	Suspeito
≥ 25	≥ 25	Positivo