

GLÊNIA MARIA DE MAGALHÃES CAMPOS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA NEOSPOROSE EM BOVINOS E
CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS, MUNICÍPIOS DE
VIÇOSA E MERCÊS, MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C198s
2005

Campos, Glênia Maria de Magalhães, 1973-
Soroepidemiologia da neosporose em bovinos e
cães de propriedades rurais, municípios de Viçosa e
Mercês, Minas Gerais / Glênia Maria de Magalhães
Campos. – Viçosa : UFV, 2005.

ix, 61f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Paula Dias Bevilacqua.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 51-59.

1. Neospora. 2. Neospora caninum. 3. Parasitologia
veterinária. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

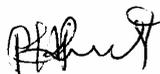
CDD 22.ed. 636.089696

GLÊNIA MARIA DE MAGALHÃES CAMPOS

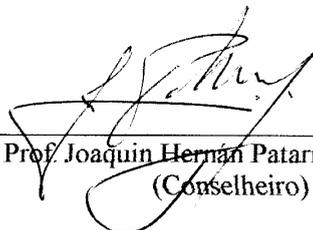
**SOROEPIDEMIOLOGIA DA NEOSPOROSE EM BOVINOS E CÃES DE
PROPRIEDADES RURAIS, MUNICÍPIOS DE VIÇOSA E MERCÊS,
MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 25 de maio de 2005



Prof. Paulo Sérgio de Arruda Pinto
(Conselheiro)



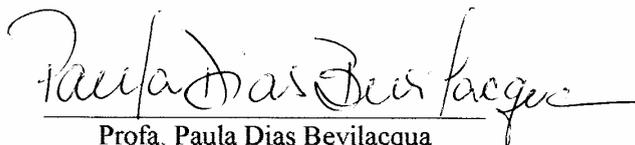
Prof. Joaquín Hernán Patarroyo Salcedo
(Conselheiro)



Prof. José Dantas Ribeiro Filho



Profa. Maria Aparecida S. Moreira



Profa. Paula Dias Bevilacqua
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Deus Pai, que bom sentir teu amor e tua força. Tu sabes o quanto precisei e preciso de Ti. Concluo aqui mais um sonho de minha vida que conquistei por Tua graça. Obrigada!

Minha gratidão também expresso para com esta instituição, sua equipe de docentes, funcionários e alunos (meus colegas e amigos), que me acolheram e me auxiliaram durante o curso.

Meu especial agradecimento ao professor Patarroyo, que foi responsável pelo meu interesse por este protozoário; à professora Paula que, além de me orientar, foi e será sempre exemplo em minha vida; ao Carlos Henryque e à Carla (BIOAGRO), pelas técnicas de imunofluorescência e isolamento de taquizoítos; à Grazielle, pelo auxílio nas coletas, pela amizade e pelo apoio; aos funcionários do laboratório da Medicina Veterinária Preventiva, pelo apoio nos diagnósticos de brucelose e leptospirose. Foi através do auxílio de vocês que esta tese chega até aqui. E por terem me acolhido, me torno agora uma pequena parte do complexo chamado UFV.

Expresso meu eterno agradecimento aos meus pais, aos meus irmãos e ao meu namorado. Pergunto-me se alguma coisa em minha vida seria possível sem o apoio de vocês. Obrigada por serem parte integrante da minha história de vida.

À Carla, ao Mauro, à Marina e à Ana Carolina, obrigada pela acolhida carinhosa e incondicional.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Ciclo biológico	3
2.2. Epidemiologia	5
2.3. Neosporose canina	7
2.4. Neosporose bovina	7
2.5. Brucelose e leptospirose: outras causas de abortamentos infecciosos em bovinos	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1. Delineamento epidemiológico	12
3.2. Descrição das propriedades.....	13
3.3. Coleta e processamento das amostras	13
3.3.1. Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i>	16
3.3.2. Pesquisa de anticorpos anti- <i>Brucella abortus</i>	16
3.3.3. Pesquisa de anticorpos anti- <i>Leptospira interrogans</i>	16
3.4. Análise dos dados	16

	Página
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1. Prevalência de propriedades positivas para neosporose, brucelose e leptospirose	18
4.2. Prevalência de bovinos positivos para neosporose, brucelose e leptospirose	22
4.3. Prevalência de cães positivos para neosporose e leptospirose	27
4.4. Neosporose bovina segundo a ocorrência de distúrbio reprodutivo	29
4.5. Neosporose bovina segundo a presença de cães positivos na propriedade	32
4.6. Neosporose bovina segundo o acesso de cães ao alimento dos bovinos ..	35
4.7. Prevalência de neosporose em propriedades segundo o tipo de exploração e o sistema de produção	36
4.8. Prevalência de neosporose segundo a prevalência de brucelose e leptospirose no rebanho	38
4.9. Prevalência de neosporose canina segundo sexo e faixa etária	39
4.10. Prevalência de neosporose canina segundo o hábito e tipo de alimentação do cão.....	41
5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	44
ANEXO	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
APÊNDICE.....	60

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Principais sorovares de <i>Leptospira</i> encontrados em cães no Brasil	10
2 Prevalência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> , anti- <i>Brucella abortus</i> e anti- <i>Leptospira</i> sp. em propriedades dos municípios de Mercês e Viçosa, 2004	19
3 Prevalência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> , anti- <i>Brucella abortus</i> e anti- <i>Leptospira</i> sp. em bovinos, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	23
4 Prevalência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> e anti- <i>Leptospira</i> sp. em cães, municípios de Mercês e Viçosa, 2004.....	28
5 Análise de associação entre propriedade positiva para neosporose bovina e distúrbio reprodutivo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	30
6 Análise de associação entre propriedade positiva para neosporose bovina e tipo de distúrbio reprodutivo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	31
7 Análise de associação entre bovinos positivos para <i>N. caninum</i> e presença de neosporose canina na propriedade, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	33
8 Análise de associação entre problema reprodutivo em bovinos e presença de neosporose canina na propriedade, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	34

	Página
9 Análise de associação entre propriedade positiva para neosporose canina e tipo de distúrbio reprodutivo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	34
10 Análise de associação entre bovinos positivos para <i>N. caninum</i> e acesso de cães ao alimento dos bovinos, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	35
11 Análise de associação entre bovinos positivos para <i>N. caninum</i> e o tipo de exploração, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	36
12 Análise de associação entre bovinos positivos para <i>N. caninum</i> e o sistema de produção, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	38
13 Análise de associação entre bovinos positivos para <i>N. caninum</i> e bovinos positivos para brucelose, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	39
14 Análise de associação entre bovinos positivos para <i>N. caninum</i> e bovinos positivos para leptospirose, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	39
15 Análise de associação entre neosporose canina e sexo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	40
16 Análise de associação entre neosporose canina e faixa etária, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	40
17 Análise de associação entre neosporose canina e hábito do animal, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	41
18 Análise de associação entre neosporose canina e tipo de alimentação, municípios de Mercês e Viçosa, 2004	42

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Localização dos municípios Viçosa e Mercês na macrorregião Zona da Mata, Minas Gerais	14
2 Mapa cartográfico da área da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa, Minas Gerais	15

RESUMO

CAMPOS, Glênia Maria de Magalhães, M.S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2005. **Soroepidemiologia da neosporose em bovinos e cães de propriedades rurais, municípios de Viçosa e Mercês, Minas Gerais.** Orientadora: Paula Dias Bevilacqua. Conselheiros: Joaquin Hernan Patarroyo Salcedo e Paulo Sérgio de Arruda Pinto.

Durante os últimos dez anos o protozoário *Neospora caninum* tem sido descrito e associado como agente etiológico de abortamentos infecciosos em bovinos. Esta doença em cães também tem caráter abortivo, mas como os caninos são hospedeiros definitivos, possuem relevante importância no ciclo de vida deste parasita, funcionando como reservatório da doença. Outras doenças como a leptospirose e a brucelose também são disseminadas em nosso país e também estão associadas a transtornos reprodutivos. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de infecção para *N. caninum* em bovinos e cães existentes em propriedades rurais de dois municípios, Viçosa e Mercês, pertencentes à Macrorregião Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, bem como analisar a existência de fatores de risco para a infecção. Foram coletadas amostras de soro de bovinos fêmeas e cães para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, pela técnica de imunofluorescência indireta; *Brucella abortus* prova seletiva (Antígeno Acidificado Tamponado - AAT) e provas confirmatórias (2-ME e SAT) e *Leptospira* sp., Técnica de Aglutinação Microscópica (MAT) sem e com diluição dos soros. Os soros bovinos foram testados para os três bio-agentes patogênicos e os de cães para *N. caninum* e *Leptospira* sp. Adicionalmente, foram coletadas informações, utilizando-se questionário

estruturado, relativas ao tipo de exploração, sistema de produção e histórico de problemas reprodutivos em bovinos e hábitos, tipo de alimentação, características demográficas dos cães. As prevalências de propriedades positivas foram de 54,3% e 18,5% para *N. caninum* em bovinos e cães, respectivamente; 15,2% para *Brucella abortus* e 6,5% para *Leptospira* sp. em bovinos e 7,4% para *Leptospira* sp. em cães. As prevalências de animais positivos apresentaram resultados menores: 23,3% de *N. caninum* em bovinos e cães, respectivamente; 15,2% para *Brucella abortus* e 6,5% para *Leptospira* sp. em bovinos e 7,4% para *Leptospira*, entretanto, é de se destacar que, para os bovinos, a prevalência para *N. caninum*, significativamente superior quando comparada a *Brucella abortus* ($p < 0,01$) e *Leptospira* sp. ($p < 0,01$). Propriedades positivas para neosporose bovina estiveram associadas à presença de distúrbios reprodutivos nos animais ($p < 0,01$), quando a análise considerou o tipo de distúrbio, abortamento (OR = 5,2; IC 95% = 1,32-20,54) e mortalidade perinatal (OR = 6,0; IC95% = 1,22 - 29,95) apresentaram associação significativa. A ocorrência de sorologia positiva para *N. caninum* em bovinos esteve associada à presença de cães positivos na propriedade ($p < 0,01$), entretanto, problema reprodutivo em bovinos não esteve associado à neosporose canina ($p = 0,1046$). Associação significativa também foi verificada entre a neosporose bovina e o tipo de exploração, sendo que os bovinos soropositivos tiveram, aproximadamente, três vezes mais chance (OR = 2,82 e IC 95% = 1,05 - 9,52) de pertencerem a sistema de produção tipo leite do que tipo misto. A caracterização da neosporose canina não revelou associação significativa com as variáveis sexo ($p = 0,55$), idade ($p = 0,34$), hábito do animal ($p = 0,03$; OR = 0,00; IC 95% = 0,0-1,06) e tipo de alimentação ($p = 0,11$). Os resultados sugerem o significado sanitário que a neosporose vem assumindo em rebanhos bovinos, notadamente quando se considera a ocorrência de problemas reprodutivos decorrentes da infecção. Nesse sentido, evidencia-se a atenção necessária das autoridades e instituições de saúde animal, no combate a esta enfermidade.

ABSTRACT

CAMPOS, Glênia Maria de Magalhães, M.S., Universidade Federal de Viçosa, May 2005. **Seroepidemiology of neosporosis in cattle and dogs of rural properties in Viçosa and Mercês, Minas Gerais.** Adviser: Paula Dias Bevilacqua. Committee members: Joaquin Hernan Patarroyo Salcedo and Paulo Sérgio de Arruda Pinto.

During the past ten years, the protozoan *Neospora caninum* has been described and associated as an ethyological agent of infected abortions in cattle. This disease in dogs also has an abortive character, but since dogs are definitive hosts, they have relevant importance in the life cycle of this parasite, acting as a source of the disease. Other diseases such as leptospirosis and brucellosis are also disseminated in Brazil and are associated to reproductive disturbances. The objective of this study was to evaluate the presence of infection for *N. caninum* in cattle and dogs of rural properties in two municipalities, Viçosa and Mercês, located in the macro-region of Zona da Mata in the state of Minas Gerais, as well as to analyze the existing risk factors for the infection. Serum samples of female cattle and dogs were collected for research of anti-*N. caninum* antibodies, using the indirect immunofluorescence technique; *Brucella abortus* selective test (Buffered Acidified Antigen - BAA) and corroborative tests (2-ME and SAT) and *Leptospira* sp., Microscopic Agglutination Technique (MAT) without and with sera dilution. The bovine sera were tested for the three pathogenic bioagents and the canine sera for *N. caninum* and *Leptospira* sp. In addition, information was collected by applying a structured questionnaire on type of exploration, production system and

reproductive problem history in cattle and habits, type of food, demographic characteristics in dogs. The prevalence of positive properties was of 54.3% and 18.5% for *N. caninum* in cattle and dogs, respectively; 15.2% for *Brucella abortus* and 6.5% for *Leptospira* sp. in cattle and 7.4% for *Leptospira* sp. in dogs. The prevalence of positive animals presented lower results: 23.3% of *N. caninum* in cattle and dogs, respectively; 15.2% for *Brucella abortus* and 6.5% for *Leptospira* sp. in cattle and 7.4% for *Leptospira*. However, it should be emphasized that the prevalence for *N. caninum* in cattle was significantly higher, compared to *Brucella abortus* ($p < 0.01$) and *Leptospira* sp. ($p < 0.01$). Positive properties for bovine neosporosis were associated to the presence of reproductive disturbances in the animals ($p < 0.01$), when the analysis considered the type of disturbance, abortion (OR = 5.2; IC 95% = 1.32-20.54) and prenatal mortality (OR = 6.0; IC 95% = 1.22 - 29.95) presented significant association. The occurrence of positive serology for *N. caninum* in cattle was associated to the presence of positive dogs in the property ($p < 0.01$); however, reproductive problem in cattle was not associated with canine neosporosis ($p = 0.1046$). Significant association was also verified between bovine osteoporosis and type of exploration, serum positive cattle having, approximately, three times more chance (OR = 2.82 and IC 95% = 1.05 - 9.52) of belonging to a milk production system rather than mixed. The characterization of canine neosporosis did not show significant association with the variables sex ($p = 0.55$), age ($p = 0.34$), animal habit ($p = 0.03$; OR = 0.00; IC 95% = 0.0-1.06) and type of food ($p = 0.11$). The results suggest that sanitation in neosporosis has become of utmost importance in bovine herds, especially when reproductive problems resulting from the infection are considered. Therefore, it becomes evident the need for animal health authorities and institutions to fight this disease.

1. INTRODUÇÃO

A neosporose é uma doença parasitária emergente, descrita em 1988, causada por um protozoário pertencente ao gênero *Neospora*.

Esta doença adquiriu grande importância em todo o mundo, principalmente em relação à bovinocultura, traduzindo, assim, o seu impacto econômico. Estudos realizados em vários países mostram ser, a neosporose, uma das principais causas de abortamentos, descarte de vacas e reposição do rebanho, bem como na queda na produção leiteira.

Pesquisas expandem-se tendo os cães como alvos não só por serem estes importantes na epidemiologia da doença como hospedeiros definitivos comprovados, mas também porque esta doença tem sido responsável pelo óbito destes animais de companhia.

Apesar de, até o momento, não serem descritos casos em humanos, muitas espécies animais mostram-se como hospedeiros através de evidências de infecção natural e experimental.

A distribuição do *Neospora caninum* é cosmopolita, sendo descrita no Brasil a presença de anticorpos em bovinos, cães, búfalos e ovelhas (as últimas, por infecção experimental).

Outras duas causas de transtornos reprodutivos, como o vírus da diarreia viral bovina (VDVB) e herpesvírus bovino, já foram pesquisadas em ocorrência concomitante com a neosporose. A brucelose e a leptospirose têm sido associadas com a perda de fertilidade e ocorrência de abortamento em rebanhos, estando disseminadas em

todo o território nacional, mas sua prevalência e distribuição regional não estão bem caracterizadas.

Este trabalho teve o objetivo de determinar as frequências de infecção por *N. caninum* em cães e fêmeas bovinas naturalmente infectadas de duas regiões mineiras com sistema de produção de leite tipo C, além de comparar as duas regiões e analisar os fatores de risco para a infecção, juntamente com a soroprevalência de leptospirose e brucelose nestes animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A neosporose foi descrita em 1984 por Bjerkas et al., na Noruega, trabalhando com filhotes de cães da raça Boxer, que apresentavam sinais neurológicos associados a um protozoário semelhante ao *Toxoplasma gondii*, sendo erroneamente identificado como este protozoário. Posteriormente, em 1988, Dubey et al., através de um estudo retrospectivo em 23 cães com suspeita diagnóstica para toxoplasmose, observaram que, em 10 dos 23 animais, o parasita encontrado era diferente de *T. gondii*, descreveram, então, o novo gênero como *Neospora* e a espécie *N. caninum*.

Em 1988b, Dubey et al., isolaram *N. caninum* em cultura celular e em camundongos a partir de cães infectados. Foi também em 1988 que foi produzido o primeiro teste para diagnóstico sorológico de *N. caninum*, a imunofluorescência indireta (IFI). E foi em 1989 que Thilsted e Dubey descreveram a presença de organismos semelhantes a *N. caninum* no cérebro de fetos bovinos abortados, procedentes de um rebanho leiteiro no Novo México, o qual apresentava histórico de abortamentos persistentes. Este diagnóstico foi confirmado posteriormente por Lindsay e Dubey (1989), utilizando soros imunes específicos contra *N. caninum*.

Na Califórnia, BARR et al. (1990) reconheceram um protozoário semelhante ao *Toxoplasma gondii*, como a maior causa de abortamento em bovinos de leite. Mcallister et al. (1998) demonstraram que os cães são os hospedeiros definitivos deste parasita.

Para um melhor entendimento sobre esta doença, os pesquisadores, DUBEY e LINDSAY (1996) e McALLISTER et al. (1996), conceituam a neosporose como sendo uma doença parasitária que possui como agente etiológico um protozoário do gênero

Neospora relacionado estrutural e geneticamente com o *Toxoplasma gondii*, sendo a sua classificação taxonômica assim descrita:

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa: Toxoplasmatinae

Classe: Sporozoasida

Ordem: Eucoccidiorida

Família: Sarcocystidae

Gênero: *Neospora*

Espécie: *N. caninum*

Em sua biologia, este parasita apresenta três estágios morfológicamente distintos: taquizoítos, cistos teciduais e oocistos. Os taquizoítos de *N. caninum* medem aproximadamente 7,5 x 2 µm, podendo variar de tamanho de acordo com o estágio de divisão (LINDSAY & DUBEY, 1996). A sua forma é ovóide, semi-lunar ou globular e uma célula infectada pode conter mais de 100 taquizoítos. A multiplicação do parasita ocorre por endogenia, ou seja, a partir de um zoíto originam-se duas progênes (SPEER et al., 1999). Penetram às células hospedeiras por invasão ativa (HEMPHILL et al., 1996), podendo ser encontrados dentro de vacúolos parasitóforos localizados no citoplasma de diferentes tipos de células animais (células neurais, macrófagos, fibroblastos, células musculares e células do endotélio vascular), que servem como hospedeiras do parasita (BJERKAS & PRESTHUS, 1988; DUBEY et al., 1988a; SPEER & DUBEY, 1989).

Os cistos possuem forma oval ou arredondada, de diâmetro entre 30 µm até 107 µm. Sua parede é lisa com espessura menor que 5 µm. Podem conter entre 20 a 100 bradizoítos com tamanho aproximado de 8,1 x 2 µm (SPEER et al., 1999).

Geralmente, os cistos teciduais de *N. caninum* têm sido demonstrados como sendo exclusivos de tecidos nervosos (SPEER et al., 1999), mas já ocorreram constatações destes em músculo ocular de potro por LINDSAY et al. (1996b) e em músculo esquelético de cães e bovinos por PETERS et al. (2001).

Os oocistos de *N. caninum*, descobertos por McALLISTER et al. (1998a) em fezes de cães, quando não esporulados, medem entre 11 e 12 µm de diâmetro e têm forma esférica ou oval com parede lisa. Após a esporulação, os oocistos contêm dois esporocistos com forma alongada e medem aproximadamente 6,5 x 2,0 µm (LINDSAY et al., 1999; McALLISTER, 1999).

2.1. Ciclo biológico

Foi descrito quando oocistos de *N. caninum* foram identificados em fezes de cães por McALLISTER et al. (1998). Eles demonstraram que cães alimentados com cistos teciduais, provenientes de camundongos infectados experimentalmente, podiam eliminar oocistos não esporulados nas fezes entre 8 e 27 dias após a ingestão. Eliminados, os oocistos esporulam dentro de três dias, apresentando dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos (McALLISTER, 1998a; DUBEY, 1999; McALLISTER, 1999).

Estes oocistos esporulados podem contaminar alimentos, água ou solo e, animais como o próprio cão, ovinos, eqüinos, caprinos, cervos e bovinos, ao ingerirem estes oocistos tornam-se hospedeiros intermediários. Nestes, os oocistos formam cistos em tecidos ou, na forma de taquizoítos, são transmitidos através da placenta para o feto infectando-o. A transmissão transplacentária foi observada em bovinos, ovelhas, cabras, camundongos, cães, cervos e primatas (DUBEY, 1999). Sendo que ela pode ocorrer repetidamente em bovinos e ovinos (BARR et al., 1993; JOLLEY et al., 1999).

Os oocistos de *N. caninum* são morfologicamente indistinguíveis de oocistos do gênero *Toxoplasma* e *Hammondia*. E, até a presente data, não se conhece a frequência de liberação destes, sobrevivência dos mesmos no meio ambiente e se outros canídeos são igualmente hospedeiros definitivos para *N. caninum* (DUBEY, 1999). Da mesma forma, ainda não existem trabalhos relatando como acontece a formação dos oocistos no intestino do cão.

Mas, sabe-se que cães alimentados com placenta proveniente de vacas soropositivas para *N. caninum* eliminam oocistos nas fezes, estes foram identificados mediante bioensaios em gerbils. Isto vem confirmar que os restos placentários são fontes de infecção para os cães (DIJKSTRA et al., 2001).

2.2. Epidemiologia

Neospora caninum é eficientemente transmitido verticalmente, por transmissão transplacentária, no rebanho por gerações (ANDERSON et al., 1997), mas sua transmissão horizontal não foi demonstrada (DUBEY, 1999). O abortamento pode ocorrer repetidas vezes em vacas e ovelhas (BARR et al., 1993), sendo que este pode ser induzido pelo *N. caninum* durante todo o ano (DUBEY, 1999).

O cão, como hospedeiro definitivo, tem papel importante na manutenção da doença no meio, apesar de não se conhecer a frequência com que os oocistos são liberados nas fezes destes (DUBEY, 1999; BASSO et al., 2001). Apesar de que GENNARI et al. (2002) não encontraram oocistos nas fezes de cães infectados.

Associando-se à ausência de conhecimentos sobre a resistência dos oocistos no meio preconiza-se proteger os alimentos e a água contra a contaminação com as fezes de cães (DUBEY, 1999; GENNARI et al., 2002). E impedir que estes possam ingerir fetos abortados, membranas fetais ou vacas mortas (DUBEY, 1999), já que foi comprovada a presença de cistos no músculo esquelético de bovinos infectados (PETERS et al., 2001), taquizoítos na placenta e em fetos infectados (DUBEY, 1999).

Anticorpos contra *N. caninum* têm sido relatados em diversos países. Sendo que, no Brasil, foram detectados anticorpos contra este protozoário nos estados de Minas Gerais, Bahia, São Paulo, Paraíba e Paraná, utilizando a técnica de imunofluorescência indireta (IFAT – “indirect fluorescent antibody test”), Teste de Aglutinação para *Neospora* (NAT) e ELISA (“Enzyme-linked immunosorbent assays”). Os animais utilizados para estes levantamentos foram bovinos, ovinos, caprinos, cães e também em búfalos, indicando a exposição destes animais ao parasita (MELO et al., 2001; GENNARI et al., 2002; AZEVEDO et al., 2004; FERNANDES et al., 2004; FIGLIUOLO et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2004; RODRIGUES et al., 2004; MOORE, 2005).

BARTELS et al. (1999) relacionam a presença de galinhas nas propriedades rurais como um fator de risco para a infecção de cães e ocorrência de abortamentos em bovinos. E alguns autores levantam a hipótese de que as galinhas poderiam ser potenciais vetores mecânicos de oocistos, ou cães poderiam adquirir a infecção ao ingerirem carne infectada destas aves (OTRANTO et al., 2003).

Ainda não existem vacinas para prevenir a ocorrência de abortamento em bovinos ou a liberação de oocistos por cães. E a prevenção da transmissão do parasita para os fetos através da seleção de vacas soropositivas ainda não foi demonstrada, mas pensa-se ser impraticável em rebanhos com alta prevalência (DUBEY, 1999).

Ainda que existam provas de infecção com sucesso em macacos (BARR et al., 1994), o potencial zoonótico da neosporose ainda não foi evidenciado (TRANAS et al., 1999; DUBEY, 2003). Mas, apesar de nenhum caso de infecção por *N. caninum* ter sido descrito em humanos, a possibilidade de infecção não pode ser excluída devido ao fato deste organismo ter uma estreita relação filogenética com o *Toxoplasma gondii*, além do elevado número de hospedeiros (PETERSEN et al., 1999).

2.3. Neosporose canina

A neosporose canina já foi descrita em diversos países, sendo prevalente em cães jovens de diversas raças infectados congenitamente (DUBEY, 1999). Os quais apresentam, na maioria das vezes, a forma subclínica da doença (BARBER & TREES, 1998).

Levantamento sorológico realizado no Japão constatou maior prevalência de infecção por *N. caninum* em cães de propriedades leiteiras com histórico de abortamentos (31,3%, 15 de 48 cães examinados) comparado com cães de áreas urbanas (7,1%, 14 de 198 cães examinados) (SAWADA et al., 1998). Concordam com eles BASSO et al. (2001) e FERNANDES et al. (2004), sugerindo a associação epidemiológica entre cães e bovinos.

A doença canina caracteriza-se por paresia dos membros posteriores, que evolui progressivamente para uma paralisia espástica (DUBEY & LINDSAY, 1996). Outros sinais como dificuldade de deglutir, paralisia da mandíbula (HAY et al., 1990), ataxia, flacidez e atrofia muscular também são observados (DUBEY et al., 1998b).

Casos de dermatite em cães adultos podem ocorrer, apesar de ser uma forma não usual da doença (DUBEY, 1999). Adicionalmente, já foram relatadas lesões ulcerativas na pele e intensa dermatite piogranulomatosa difusa (PERL et al., 1998).

Outras lesões associadas com *N. caninum* são necrose no sistema nervoso central, fígado, meningoencefalomielite e miosite (DUBEY et al., 1988a), poliradiculite, polimiosite (CUDDON et al., 1992) e miocardite (ODIN & DUBEY, 1993).

2.4. Neosporose bovina

Em bovinos adultos, a neosporose se caracteriza por abortamento, sendo este o único sinal clínico observado. Os abortamentos podem ocorrer do terceiro mês ao término da gestação, mas geralmente ocorrem entre o quinto e o sexto mês (DUBEY, 1999), sendo mais provável em vacas soropositivas do que em vacas soronegativas (JENKINS et al., 2002; OTRANTO et al., 2003; SADREBAZZAZ et al., 2004), principalmente filhas de mães soropositivas – transmissão vertical (WOUDA et al., 1998). Apesar de DIJKSTRA et al. (2002) não encontrarem associação entre o status sorológico de mães e filhas (indicando infecção horizontal), nem evidência de

abortamento com 47% de soroconversão no rebanho, demonstrando que este sinal clínico pode não estar presente em rebanhos infectados. Fato que talvez possa ser explicado por JENKINS et al. (2002), que atentam para a consideração de que o parasita necessita se adaptar ao gado para então ser transmitido através da placenta com maior frequência.

Os fetos infectados podem morrer no útero e serem reabsorvidos, mumificados, autolisados, natimortos, nascerem vivos, mas doentes, ou nascerem clinicamente normais, mas com infecção crônica (DUBEY & LINDSAY, 1996; DUBEY, 1999).

Sinais clínicos são somente reportados em bezerros com menos de dois meses de idade, que sobrevivem à infecção uterina e nascem vivos, mas doentes. Estes apresentam um baixo peso corporal, dificuldade em levantar-se e sinais neurológicos (DUBEY, 1999). Os membros petúcos e, ou, torácicos se encontram flexionados ou hiperextendidos e o exame neurológico revela ataxia, decréscimo do reflexo patelar e perda de consciência (DUBEY, 1999), sendo que esta disfunção dos membros pode chegar à paralisia completa (ANDERSON et al., 2000). Também poderá ser observada exoftalmia ou uma aparência assimétrica dos olhos (DUBEY & LINDSAY, 1996; DUBEY, 1999).

2.5. Brucelose e leptospirose: outras causas de abortamentos infecciosos em bovinos

Diversos trabalhos relatam a leptospirose como sendo associada a abortamentos, distúrbios reprodutivos (retenção de placenta e natimortos) (RIBEIRO et al., 1988; LILENBAUM et al., 1995; MOREIRA et al., 1993) e baixa fertilidade do rebanho (DHALIWAL et al., 1996). A prevalência desta doença bacteriana em rebanhos bovinos é descrita em diversos trabalhos no Brasil, com os sorovares apresentando variações de frequência de acordo com a região estudada, sendo que hardjo e wolffi são os sorovares, geralmente, mais prevalentes (BARBOSA, 1962; MOREIRA et al., 1979; MADRUGA et al., 1980; RIBEIRO et al., 1988; RIBEIRO et al., 1988a; RODRIGUES et al., 1999; JULIANO et al., 2000; RENDE & ÁVILA, 2003). No Estado de Minas Gerais, Barbosa (1962), a partir de 318 amostras (120 bovinos, 112 eqüinos e 86 suínos), provenientes de oito propriedades do município de Belo Horizonte, identificou 18,3%, 27,7% e 29,1% de positividade para bovinos, eqüinos e suínos, respectivamente, sendo pomona o sorovar mais encontrado. Outro trabalho também realizado em Minas Gerais, no período de 1975 a 1978, com 2.702 amostras de 126 municípios, encontrou uma variação de 4 a 80% para leptospirose, sendo o sorovar wolffi o mais prevalente

(MOREIRA et al., 1979). Em outras regiões deste Estado, Uberlândia e Governador Valadares, 53,3% de soropositividade foi encontrada em bovinos, sendo wolffi e hardjo os mais prevalentes em cada uma das regiões, respectivamente (RIBEIRO et al., 1988; RIBEIRO et al., 1988a). Estudo em que se avaliou a presença de amostras de soros reagentes para *Leptospira* sp., em banco de soros constituído a partir da demanda laboratorial para diagnóstico de diferentes enfermidades bovinas, encontrou 10% de amostras positivas oriundas da macrorregião Zona Mata de Minas Gerais, sendo hardjo (6,13%), pomona (3,23%) e wolffi (2,26%) os sorovares mais prevalentes (FARIA et al., 1984).

Segundo informações obtidas no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), a partir de trabalho realizado no ano de 2004 em 185 propriedades e 1.464 bovinos provenientes dos municípios pertencentes à Delegacia Regional de Juiz de Fora, foram identificados 1,5% de animais positivos e 8,1% de propriedades positivas para leptospirose (IMA, 2005¹).

As infecções por *Leptospira* sp. no gado são classificadas por ELLIS (1984) em dois grandes grupos: um de sorovar adaptado ao rebanho (*Leptospira hardjo*), que independem da região ou época de chuva, e outro grupo que consiste em infecções acidentais causadas por sorovares carreados outros animais domésticos ou silvestres estes dependem fatores ambientais e práticas de manejo da fazenda. Este segundo grupo adquire maior importância em países tropicais do que em outras regiões (LILENBAUM & SOUZA, 2003).

A presença de cães positivos para leptospirose em propriedades rurais pode significar importante fonte de infecção para bovinos, dependendo da forma de manejo adotada. A leptospirose canina tem sido detectada a partir de diversos inquéritos soropidemiológicos realizados em várias regiões do Brasil. Os trabalhos apontam a presença de diferentes sorovares de *Leptospira* em cães (SANTA ROSA et al., 1974; YASUDA et al., 1980; AVILA et al., 1998; ALVES et al., 2000; LILENBAUM et al., 2000; MODOLO et al., 2000; VIEGAS et al., 2001; MASCOLLI et al., 2002 e SILVA, 2003). Nesses estudos, os sorovares canicola e icterohaemorrhagiae despontam, geralmente, como os mais prevalentes (Tabela 1).

Para o diagnóstico da leptospirose a técnica recomendada é a microaglutinação rápida (RYU, 1970; BRASIL, 1999).

¹ Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), Delegacia Regional de Juiz de Fora -MG. Dados disponíveis, não publicados.

Tabela 1 – Principais sorovares de *Leptospira* encontrados em cães no Brasil

Autores	Local	Nº de amostras examinadas	Animais positivos (%)	Principais sorovares (%)
YASUDA et al. (1980)	São Paulo-SP	1.428	308 (21,6)	canicola (50,7) icterohaemorrhagiae (25,5) grippothyphosa (7,8) pomona (6,7)
AVILA et al. (1998)	Pelotas-RS	425	143 (33,6)	canicola (58,1) icterohaemorrhagiae (20,9) copenhageni (11,4) grippothyphosa (2,7)
ALVES et al. (2000)	Patos-PB	114	23 (20,2)	autumnalis (34,8) grippothyphosa (13,0) autumnalis (8,7)
LILENBAUM et al. (2000)	Oriximina-PA	185	34 (18,4)	icterohaemorrhagiae (10,3) canicola (6,0) copenhageni (4,9)
VIEGAS et al. (2001)	Salvador-BA	120	102 (85,0)	autumnalis (35,0) canicola (25,0) icterohaemorrhagiae (23,3) grippothyphosa (10,0) pyrogenes (12,5) pomona (1,6)
FÁVERO et al. (2002)	Diferentes regiões dos estados SP, RS, SC e PI	983	174 (17,7)	copenhageni (24,0) icterohaemorrhagiae (10,9) pyrogenes (3,8)
MASCOLLI et al. (2002)	Santana da Parnaíba-SP	410	61 (14,9)	copenhageni (24,4) canicola (16,0) hardjo (16,0)
SILVA (2003)	Botucatu-SP	1.000	179 (17,9)	castellonis (28,7) autumnalis (19,1) pyrogenes (17,7) icterohaemorrhagiae (11,0) canicola (9,6)

Mas, outra doença bacteriana, a brucelose, também é descrita como associada a distúrbios reprodutivos em bovinos. Esta acomete o trato reprodutivo, ocasionando abortamentos, baixos índices reprodutivos, aumento do intervalo de partos, diminuição da produção de leite, morte de bezerros e interrupção de linhagens genéticas (BRASIL, 2003).

Não existem valores concretos de perdas econômicas por esta doença no Brasil, mas estima-se que ocorra queda de 25% na produção de carne e leite, por diminuição de 15% na produção de bezerros e 1 em cada 5 vacas infectadas aborta ou torna-se estéril.

Propriedades acometidas perdem no valor comercial dos animais e regiões endêmicas possuem posição desvantajosa no mercado (BRASIL, 2003). Considerando que a sanidade dos rebanhos é fator fundamental para a produtividade, o controle e a erradicação da brucelose bovina constituem um aspecto importante pelo impacto que acarreta na produtividade dos rebanhos (RIBEIRO et al., 2003).

Ao contrário da leptospirose, animais domésticos e silvestres são susceptíveis à infecção por *Brucella abortus*, mas comportam-se como hospedeiros finais, não se caracterizando como reservatórios de *Brucella abortus* para os bovinos (BRASIL, 2003).

Para o diagnóstico destes abortamentos bacterianos os testes de fixação de complemento, antígeno acidificado tamponado (AAT), soroglutinação lenta em tubos (SALT) e 2-mercaptoetanol (2ME) são preconizados para brucelose, sendo os resultados interpretados conforme as normas de BRASIL (2003), pertencentes ao Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento epidemiológico

O presente trabalho constituiu ‘estudo epidemiológico transversal’, também denominado ‘estudo de prevalência’. Esse delineamento se caracteriza pela observação direta das variáveis de estudo em uma única oportunidade e sua análise considera que todas as observações foram feitas num mesmo instante, ignorando o espaço de tempo decorrido para a coleta dos dados do primeiro ao último indivíduo.

Para o desenvolvimento dessa pesquisa foram selecionadas propriedades rurais nas quais foram realizadas visitas e, na oportunidade, aplicou-se questionário (anexo) para coletar dados relacionados ao manejo, sistema de produção, idade, histórico de problemas reprodutivos, presença e hábitos de cães na propriedade. Essas constituíram as variáveis independentes do estudo. A variável dependente caracterizou-se pelo resultado do diagnóstico laboratorial para pesquisa de anticorpos para *N. caninum*. Adicionalmente, foram realizadas pesquisas para detecção de outras enfermidades relacionadas a problemas reprodutivos, a saber, brucelose e leptospirose.

O questionário foi previamente testado a partir da aplicação do mesmo em cinco propriedades previamente selecionadas.

3.2. Descrição das propriedades

As propriedades que fizeram parte da pesquisa estavam localizadas nos municípios Viçosa e Mercês, pertencentes à macrorregião da Zona da Mata, estado de Minas Gerais. A localização dos municípios pode ser visualizada na Figura 1. Ao todo, foram pesquisados 46 estabelecimentos, sendo 32 localizados na área da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, no município de Viçosa (Figura 2), selecionados a partir de trabalho de pesquisa prévio desenvolvido nessa área. Os quatorze estabelecimentos restantes compreenderam propriedades localizadas no município de Mercês.

As propriedades sediadas no município de Viçosa-MG se caracterizam, basicamente, por agricultura familiar e exploração do tipo subsistência, com rebanhos pequenos (média de 5,5 fêmeas) em regime de alimentação extensivo (a pasto). No município de Mercês, os estabelecimentos selecionados desenvolvem bovinocultura leiteira, em regime de semiconfinamento. Essas propriedades também apresentam rebanhos pequenos (média de 14,7 fêmeas), porém se diferenciam por possuírem melhor nível de tecnificação. No primeiro caso, a média de produção de leite é de 13,3 L/dia e, no segundo, 88 L/dia. O leite produzido nas propriedades selecionadas é do tipo C.

3.3. Coleta e processamento das amostras

Para o diagnóstico laboratorial, procurou-se coletar amostras de sangue de todas as fêmeas bovinas em idade reprodutiva e cães existentes nas propriedades no momento de nossa visita. O sangue de bovinos foi coletado através da punção da veia jugular ou da veia coccígea e, no caso dos cães, puncionando-se a veia cefálica, a veia jugular ou a veia femural, dependendo do tamanho e das condições do animal. As coletas foram realizadas apenas uma vez em cada animal, compreendendo o período de dezembro de 2003 a fevereiro de 2004.

As amostras, armazenadas em frascos de vidro estéreis, sem anticoagulante, foram resfriadas e enviadas, imediatamente, ao Laboratório de Microbiologia do Setor de Medicina Veterinária e Saúde Pública do Departamento de Veterinária da UFV, para processamento.



Fonte: Mapa Geopolítico de Minas Gerais - IGA / CETEC - 1994
Digitalização: Assessoria da Secretaria Geral do Governador

Figura 1 - Localização dos municípios Viçosa e Mercês na macrorregião Zona da Mata, Minas Gerais.



Figura 2 – Mapa cartográfico da área da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa, Minas Gerais.

Primeiramente, as amostras foram centrifugadas, durante cinco minutos a 3.000 RPM, para completa separação do soro. Este foi aliquotado, armazenado em frascos estéreis e congelado até a realização dos exames.

A pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* foi realizada no Laboratório de Biologia e Controle de Hematozoários e Vetores/BIOAGRO/UFV e as demais análises no Laboratório de Microbiologia do Setor de Medicina Veterinária e Saúde Pública do Departamento de Veterinária/UFV.

3.3.1. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum*

A técnica utilizada para a pesquisa de anticorpos em bovinos e cães foi a imunofluorescência indireta, conforme descrito por (OVIDO, 2001) (anexo).

3.3.2. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus*

Conforme norma do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus*, nas amostras bovinas, contou com uma prova seletiva (“AAT”), por meio da qual foi feita a triagem das amostras positivas para serem retestadas com provas confirmatórias (2-ME e SAT). Tais provas foram realizadas de acordo com os protocolos descritos em BRASIL (2003) (anexo).

3.3.3. Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira interrogans*

Para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* nas amostras de soro bovino e canino, realizamos a prova de microaglutinação rápida para triagem e, como prova confirmatória, a mesma técnica, porém com a diluição dos soros positivos em 1:200 e 1:400, conforme recomendado por RYU (1970) e BRASIL (1999) (anexo).

Na pesquisa de anticorpos por microaglutinação utilizamos cultura de leptospiros vivas, sendo que para os soros bovinos usamos os sorogrupos Bratislava, Castellonis, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi, Djasiman, Hardjo, Wolffi. E, para a análise dos soros caninos, servimo-nos dos sorogrupos Canicola, Autumnalis, Bratislava, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Castellonis e Pomona. Tais sorogrupos foram assim selecionados por ocorrerem com maior frequência em diagnósticos das referidas espécies na região pesquisada.

3.4. Análise dos dados

As análises foram realizadas a partir do cálculo da prevalência de enfermidade (neosporose, brucelose e leptospirose) considerando como unidade de análise propriedades e animais (bovinos e cães), para cada município (Viçosa e Mercês). Os resultados (proporções) foram comparados utilizando-se o teste do Qui-quadrado.

A análise de associação entre as variáveis foi realizada utilizando o teste do Qui-quadrado ou o teste exato de Fisher em tabelas de contingência 2x2 no programa EpiInfo versão 6.04 (WHO, 1997). A análise de linearidade, quando a variável foi classificada em mais de uma categoria, foi feita a partir do teste Qui-quadrado para linearidade. Considerando a população bovina, as variáveis testadas foram propriedades e animais positivos para neosporose, bovinos positivos para brucelose e leptospirose, problema reprodutivo e suas categorias (abortamento, mortalidade perinatal e repetição de cio), acesso de cães ao alimento de bovinos, tipo de exploração e sistema de produção. Para os cães, as variáveis analisadas foram propriedades e animais positivos para neosporose, sexo, faixa etária, hábito e tipo de alimentação. Todas as análises foram interpretadas considerando-se o nível de significância de 95%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Prevalência de propriedades positivas para neosporose, brucelose e leptospirose

Considerando o número de propriedades pesquisadas (32 no município de Viçosa e 14 no município de Mercês) encontramos um total de 25 (54,3%) propriedades positivas para neosporose, 7 (15,2%) para brucelose e 3 (6,5%) para leptospirose (Tabela 2). As propriedades foram consideradas positivas quando pelo menos um animal apresentou exame com resultado positivo para as enfermidades.

A análise geral entre as prevalências revelou diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 31,54$, $p < 0,000001$). A comparação individual, entretanto, revelou que apenas as prevalências de neosporose e brucelose ($p < 0,01$) e neosporose e leptospirose ($p < 0,01$) diferiram estatisticamente entre si. Nesse sentido, encontramos maior prevalência de propriedades positivas para neosporose do que para brucelose e leptospirose, sendo as prevalências para as duas últimas enfermidades iguais entre si ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Os dados destas doenças por município demonstraram que em Viçosa 15 (46,9%) propriedades foram positivas para neosporose; 2 (6,2%) para brucelose e nenhuma propriedade apresentou bovinos sororeagentes para leptospirose. Estatisticamente encontramos diferença entre estas prevalências ($\chi^2 = 28,45$, $p < 0,01$), sendo que a maior prevalência foi verificada para a neosporose ($p < 0,01$), enquanto brucelose e leptospirose apresentaram valores semelhantes de prevalência ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* sp. em propriedades dos municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Município	Propriedades	Enfermidades					
		Neosporose		Brucelose		Leptospirose	
		Positivas	Prevalência (%) (IC 95%)*	Positivas	Prevalência (%) (IC 95%)	Positivas	Prevalência (%) (IC 95%)
Viçosa	32	15	46,9 ^{a1} (29,5-65,0)	2	6,3 ^{b1} (1,1-22,2)	0	0,0 ^{b1} (0,0-13,3)
Mercês	14	10	71,4 ^{a1} (42,0-90,4)	5	35,7 ^{ac2} (14,0-64,4)	3	21,4 ^{bc2} (5,7-51,2)
Total	46	25	54,3^a (39,1-68,8)	7	15,2^b (6,8-29,5)	3	6,5^b (1,7-18,9)

* Intervalo de confiança ao nível de significância de 95%.

No corpo de tabela, prevalências seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam que existe diferença estatística ao nível de significância de 95%.

No corpo de tabela, prevalências seguidas de números diferentes na mesma coluna indicam que existe diferença estatística ao nível de significância de 95%.

Para o município de Mercês, as prevalências de propriedades positivas verificadas foram 71,4% para neosporose; 35,7% para brucelose e 21,4% para leptospirose. Também verificamos diferença estatisticamente significativa entre os resultados ($\chi^2 = 7,58$, $p = 0,0226$). Nesse município, entretanto, a prevalência de propriedades positivas para neosporose não se destacou como a mais elevada, sendo semelhante, estatisticamente, à da brucelose ($p > 0,05$). Verificamos diferença apenas quando comparamos as prevalências de propriedades positivas para neosporose e para leptospirose ($p < 0,01$), conforme Tabela 2.

A análise entre os dois municípios revelou diferenças estatisticamente significativas para brucelose (χ^2 correção de Yates = 4,47, $p = 0,03$) e para leptospirose (χ^2 correção de Yates = 4,24, $p = 0,04$). Considerando a prevalência de propriedades positivas para neosporose não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os municípios ($\chi^2 = 2,37$, $p = 0,124$) (Tabela 2).

A partir dos resultados apresentados, verificou-se que, de forma geral, um maior número de propriedades apresentou animais soropositivos para a neosporose, seguida, em magnitude, da brucelose e da leptospirose. RIVERA et al. (2000) relatam em seu experimento a ausência de *B. abortus* e *Leptospira* sp. e a prevalência de 62,1% para *N. caninum*, com isso evidenciam a importância da neosporose como causadora de abortamentos em rebanhos do Peru. De forma semelhante, DAVISON et al. (1999), encontraram significância maior da soroprevalência de neosporose do que de diarreia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e *L. hardjo*, como enfermidade relacionada ao abortamento em rebanhos leiteiros.

A neosporose tem sido considerada emergente em todo o mundo, tendo sido reportada na América do Sul (Argentina, Brasil, Chile, Paraguai, Peru e Uruguai) em estudos realizados na última década (MOORE, 2005). Sua prevalência varia de região para região de acordo com os fatores de risco associados (LEITE et al., 2001; OTRANTO et al., 2003; HOBSON et al., 2004).

Os dados encontrados revelam a existência da neosporose nas áreas investigadas, com elevado número de propriedades apresentando animais soropositivos. Para a brucelose e a leptospirose, apesar de um menor número de propriedades ter apresentado animais positivos, os resultados mostram que ambas as doenças ainda estão presentes nas áreas pesquisadas.

Com relação aos dados obtidos segundo os municípios, observamos que ambos apresentam a neosporose relativamente bem disseminada, com elevados percentuais de propriedades analisadas apresentando animais soropositivos. Interessante notar, que no município de Mercês, brucelose e leptospirose apresentaram-se mais disseminadas, com maior número de propriedades apresentando animais positivos que no município de Viçosa.

As diferenças entre as áreas podem sugerir um maior trânsito de animais nas propriedades. Durante a coleta dos dados a partir das entrevistas realizadas com os proprietários e de observações diretas realizadas, foi possível perceber, que no município de Viçosa, há freqüentes trocas de animais entre as propriedades pesquisadas; já no município de Mercês, verificou-se intenso trânsito de animais envolvendo regiões distintas, com entrada de bovinos nas propriedades analisadas provenientes de municípios vizinhos (Barbacena, Juiz de Fora, Rio Pomba, Santos Dumont e Tocantis), de outras áreas de Minas Gerais (Sul de Minas) e também de outros estados (Bahia e Espírito Santo). Ressalta-se, ainda, que não havia, por parte dos proprietários, preocupação em exigir certificado de vacinação, quando da aquisição de novos animais.

Segundo POESTER et al. (2002), diferenças entre prevalências de brucelose por região poderão também estar relacionadas com diferenças de densidade populacional entre as regiões. Segundo estes pesquisadores, quanto maior o número de animais, maior a prevalência de infecção por *B. abortus*.

Com relação à leptospirose, estudo realizado na macrorregião Zona da Mata, evidenciou prevalências de propriedades positivas nas microrregiões Mata de Ubá e Mata de Viçosa de 10,34% e 3,13%, respectivamente (FARIA et al., 1984). Apesar do presente estudo não ter avaliado de forma representativa ambas as microrregiões, Mata de Ubá (atualmente denominada microrregião Ubá) e Mata de Viçosa (atualmente denominada microrregião Viçosa), os municípios pesquisados apresentaram padrão de prevalência semelhante ao trabalho de FARIA et al. (1984). Assim, o município de Mercês (integrante da microrregião Ubá) apresentou maior prevalência de propriedades positivas para leptospirose (21,4%) e o município de Viçosa (integrante da microrregião Viçosa) o menor valor de prevalência (0,0%).

As diferenças de prevalência para leptospirose, segundo LILENBAUM & SOUZA (2003), poderão ocorrer devido a fatores desde a adaptação da cepa *L. hardjo* ao gado; presença de outras espécies de animais domésticos e animais silvestres nas propriedades até aos fatores ambientais e práticas de manejo.

4.2. Prevalência de bovinos positivos para neosporose, brucelose e leptospirose

Foram examinadas 296 amostras de soro de fêmeas bovinas, revelando prevalências de 23,3% para neosporose; 4,4% para brucelose e 1,0% para leptospirose, com diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 98,77$, $p < 0,01$) entre as mesmas. Assim, neosporose concentrou o maior número de animais positivos ($p < 0,01$) e brucelose e leptospirose aparecem com percentuais significativamente menores (Tabela 3).

Os dados de Viçosa revelam soropositividade de 22,6% para neosporose, 1,6% para brucelose e não foram encontrados casos de leptospirose bovina neste município. Em Mercês, a prevalência de animais positivos para neosporose foi de 23,8%, para brucelose 6,4% e para leptospirose 1,7% (Tabela 3).

Considerando os dados acima, foram observadas diferenças significativas entre as prevalências de cada município (Viçosa: $\chi^2 = 53,08$, $p < 0,01$; Mercês: $\chi^2 = 49,01$, $p < 0,01$). Entretanto, para ambos os municípios, essa diferença foi significativa apenas quando se compararam as prevalências de neosporose e brucelose ($p < 0,01$) e neosporose e leptospirose ($p < 0,01$). As prevalências de brucelose e leptospirose foram idênticas entre si para as duas regiões ($p > 0,05$), conforme Tabela 3.

A análise entre os dois municípios não revelou diferenças estatisticamente significativas entre as infecções (neosporose: $\chi^2 = 0,06$, $p = 0,80$; brucelose: $\chi^2 = 3,92$, $p = 0,05$ e leptospirose: χ^2 correção de Yates = 0,79, $p = 0,37$). Nesse sentido, as prevalências de animais positivos para cada um dos três agravos são semelhantes entre as áreas dos municípios pesquisados (Tabela 3).

A partir dos resultados encontrados, pode-se constatar que também para a prevalência de animais positivos, de uma forma geral, a neosporose continua sendo a mais prevalente das infecções, semelhante ao que havia sido verificado quando da análise segundo as propriedades.

Considerando os municípios individualmente, em Viçosa, verificou-se que a neosporose aparece como o agravo de maior significado epidemiológico, com os maiores valores de prevalência por propriedade (46,9%) e por animal (22,6%). Para o município de Mercês, entretanto, quando se analisaram as prevalências de animais positivos, a neosporose é também a doença com maior número de casos nos rebanhos (23,8%), diferentemente dos resultados segundo as propriedades, onde as prevalências de neosporose (71,4%), brucelose (35,7%) e leptospirose (21,4%) são relativamente elevadas.

Tabela 3 – Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus* e anti-*Leptospira* sp. em bovinos, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Município	Animais	Enfermidades					
		Neosporose		Brucelose		Leptospirose	
		Casos	Prevalência (%) (IC 95%) ^(*)	Casos	Prevalência (%) (IC 95%)	Casos	Prevalência (%) (IC 95%)
Viçosa	124	28	22,6 ^{a1} (15,8-31,1)	2	1,6 ^{bd1} (0,3-6,3)	0	0,0 ^{cd1} (0,0-3,7)
Mercês	172	41	23,8 ^{a1} (17,8-31,0)	11	6,4 ^{bd1} (3,4-11,4)	3	1,7 ^{cd1} (0,5-5,4)
Total	296	69	23,3^a (18,7-28,6)	13	4,4^b (2,5-7,6)	3	1,0^c (0,3-3,2)

* Intervalo de confiança ao nível de significância de 95% .

No corpo de tabela, prevalências seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam que existe diferença estatística ao nível de significância de 95% .

No corpo de tabela, prevalências seguidas de números diferentes na mesma coluna indicam que existe diferença estatística ao nível de significância de 95% .

Ressalta-se que as prevalências de animais positivos para neosporose em ambas as áreas revelaram valores significativamente maiores do que para a brucelose e a leptospirose. Relativamente, considerando a brucelose, que é o agravo que aparece em segundo lugar em importância, a prevalência de animais positivos para neosporose é, aproximadamente, 14 vezes maior em Viçosa e quatro vezes em Mercês.

No Brasil, a neosporose bovina já foi descrita em propriedades leiteiras, em diversos estados, com as seguintes percentagens de animais positivos: 14,1% na Bahia (GONDIM et al., 1999); 18,4% em Minas Gerais (MELO et al., 2004); 14,3% e 34,8% no Paraná (Locatelli-Dittrich et al., 2001 citados por MOORE, 2005; GUIMARÃES et al., 2004;) e 11,2% no Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2002).

MELO et al. (2001) observaram frequências diferentes ($p < 0,001$) de infecção por este protozoário em dois grupos de propriedades leiteiras mineiras, o grupo 1 com 27,31% de prevalência (65 de 238 amostras) e o grupo 2 com 12,72% de prevalência (44 de 346 amostras). Segundo os autores o que diferenciava os dois grupos era o tipo de leite produzido pela propriedade (grupo 1, leite A/B e grupo 2, leite C) e não a região onde estas estavam localizadas. Segundo OTRANTO et al. (2003), rebanhos grandes possuem maior soroprevalência do que rebanhos de pequeno e médio porte, principalmente naqueles onde há prática permanente de comercialização de animais.

AKCA et al. (2005) investigaram a soroprevalência de *N. caninum* em bovinos na Turquia, onde trabalharam com 301 amostras de soro de 17 rebanhos. Destas, 228 amostras eram provenientes de animais de raças nativas e 73 da raça Simental, sendo 12 originalmente importados da Alemanha. Somente foram positivas seis amostras da raça Simental (8,2%), referentes a animais descendentes das fêmeas importadas. A odds ratio calculada foi de 20,3, significando maior chance de infecção por *N. caninum* para a raça Simental do que para as raças nativas. Os autores sugerem que a provável introdução da infecção no rebanho se deu partir da importação de animais. Segundo PARÉ et al. (1998), a necessidade ou intenção de melhoria genética dos rebanhos tem sido frequentemente relacionada à entrada de novos agentes infecciosos no rebanho, principalmente em se tratando de novilhas de reposição.

A brucelose é uma doença amplamente disseminada em nosso país, sendo a *B. abortus* o principal bio-agente patogênico da brucelose bovina (POESTER et al., 2002), com maior prevalência em bovinos leiteiros (MORENO, 2002). Em 1975, foram verificadas as seguintes prevalências em animais por regiões: Norte, 4,1%; Sul, 4%; Nordeste, 2,5%; Sudeste, 7,5% e Centro Oeste, 6,8%. Posteriormente, alguns estados

realizaram estudos sorológicos, onde foi possível verificar que a prevalência de animais positivos no Brasil manteve-se, no período de 1988 a 1998, entre 4% e 5% (BRASIL, 2001; BRASIL, 2003).

Dados de pesquisa mais recente revelam a situação endêmica estabelecida e a maior prevalência da infecção por *Brucella abortus* em regiões com alta densidade bovina (POESTER et al., 2002). Em Minas Gerais, estado que concentra o maior rebanho leiteiro do país, a prevalência para esta doença caiu de 7,6%, em 1977, para 6,7%, em 1980, significando redução de 0,9% no período (Castro, 1982, citado por POESTER et al., 2002; BRASIL, 2003). Uma revisão da situação da brucelose no Paraguai, realizada a partir da análise de séries históricas de dados secundários, BAUMGARTEN (2002) também verificou significativo decréscimo da prevalência naquele país. Segundo o autor, esta redução seria reflexo de ações mais adequadas de controle da doença, da melhora geral do nível educacional dos produtores, bem como, acesso à informação sobre vacinação dos animais e sobre a realização de exames diagnóstico de rotina.

Para a leptospirose bovina, no Brasil, alguns trabalhos citam prevalências variando de 6,13%, 3,23% e 2,26% para os sorovares hardjo, pomona e wolffi, respectivamente (FARIA et al., 1984); 68,4% para os sorovares hardjo e wolffi (LILENBAUM et al., 1995); 83,8% para os sorovares wolffi, castellonis e icterohaemorrhagiae (VIEGAS et al., 2001b) e 46,9% para o sorovar hardjo (LILENBAUM et al., 2003).

Considerando o exposto, ressaltamos que são descritos vários fatores de risco associados à ocorrência de brucelose e leptospirose em propriedades rurais. Para a brucelose, citam-se a alta densidade populacional (POESTER et al., 2002); as práticas de manejo; a informação sobre a imunização dos animais e a realização de exames diagnósticos rotineiros (BAUMGARTEN, 2002). Com relação à leptospirose, LILENBAUM & SOUZA (2003) descrevem fatores como a adaptação da *L. hardjo* ao rebanho; a presença de outros animais na propriedade que possam carrear outras leptospirosas e fatores ambientais e de manejo que possam contribuir para a distribuição dos sorovares.

No presente trabalho, no município de Mercês, foram verificadas prevalências elevadas de brucelose (35,7%) e leptospirose (21,4%) por propriedade, entretanto quando consideramos os animais como unidade de análise, as prevalências encontradas foram reduzidas, 6,4%, para brucelose e 1,7%, para leptospirose. No município de

Viçosa, a análise por propriedade revelou prevalências significativamente menores para ambas as infecções, inclusive com ausência de propriedades positivas para leptospirose. Contudo, para a brucelose, a análise por animal apresentou o mesmo comportamento assinalado para o município de Mercês, com redução da prevalência (Tabelas 1 e 2).

A prevalência de brucelose nestas regiões pode ser explicada, provavelmente, pelo comércio de animais sem controle realizado pelos proprietários de ambos os municípios, conforme já ressaltado anteriormente. Por outro lado, as reduzidas prevalências de animais positivos podem ser reflexo da prática de vacinação realizada pelos proprietários². Apesar do PNCEBT/MAPA, instituído a partir de 2001 (BRASIL, 2001), ainda não estar com as atividades previstas plenamente implementadas, a prática de vacinação de fêmeas bovinas contra a brucelose foi bastante difundida, ainda que com efetividade questionável, a partir das medidas de controle regulamentadas pela Portaria GM nº 23/76 (BRASIL, 1976), que aprovou as normas para a profilaxia da brucelose animal no país.

Ainda com relação à brucelose, verificamos que a prevalência de animais positivos, dentre as propriedades pesquisadas no município de Mercês foi maior (6,4%) que a do município de Viçosa (1,6%). Embora não tenhamos identificado diferença estatisticamente significativa, podemos especular sobre o fato de que no município de Mercês existe a prática de inseminação artificial, muitas vezes sem controle da qualidade do sêmen utilizado, diferentemente das propriedades investigadas no município de Viçosa, onde é recorrente a monta natural.

Esta informação é importante, uma vez que a inseminação artificial, na espécie bovina, é citada como fator de risco para a infecção por *Brucella* sp., pois o sêmen é introduzido diretamente no útero. Por outro lado, a transmissão pelo coito parece não ser de grande importância entre bovinos, na medida em que o sêmen é depositado na vagina, onde defesas inespecíficas dificultam o processo de infecção (BRASIL, 2003).

Com relação à leptospirose, trabalho realizado na macrorregião Zona da Mata de Minas Gerais identificou 10% de animais soros reagentes para leptospirose bovina. Especificamente na microrregião Mata de Viçosa (atualmente microrregião Viçosa), foram identificados 3,03% de animais positivos (FARIA et al., 1984), sendo este o menor valor de prevalência verificado por microrregião. No presente trabalho a sorologia para leptospirose foi positiva apenas para três amostras de soro provenientes

² Segundo informações obtidas dos proprietários, a vacinação contra brucelose seguia as recomendações preconizadas pelo MAPA, ou seja, vacinação de fêmeas com idade entre três a oito meses de idade.

do município de Mercês. Dentre os sorovares identificados, uma amostra foi reagente para wolffi na diluição de 1:200 e duas para hardjo na diluição de 1:400.

Apesar de não ter sido realizado trabalho com amostragem significativa para ambas as microrregiões, os resultados encontrados sinalizam para o fato de que a microrregião Viçosa apresenta, já em trabalhos realizado na década dos 80, baixas prevalência para leptospirose bovina. Quando avaliamos a prevalência desta doença no Brasil, verificamos que o Estado de Minas Gerais apresenta os menores valores de animais soros reagentes (FARIA et al., 1984; LILENBAUM et al., 1995; VIEGAS et al., 2001b; LILENBAUM et al., 2003). Neste sentido, o presente trabalho sinaliza para o fato de que nosso Estado continua apresentando índices baixos de infecção por *Leptospira* sp. em bovinos. Entretanto, chama-se atenção para a necessidade de realização de estudos epidemiológicos mais bem delineados para o melhor esclarecimento da ocorrência desta enfermidade nas áreas pesquisadas.

A neosporose vem assumindo significado sanitário importante, enquanto brucelose e leptospirose, até mesmo pelo fato de serem mais bem conhecidas e, conseqüentemente, controladas, ainda que com ações/atividades de efetividade questionável, têm apresentado reduções paulatinas de suas prevalências nos rebanhos.

4.3. Prevalência de cães positivos para neosporose e leptospirose

As amostras caninas totalizaram, para os dois municípios, 54 soros cujas análises revelaram prevalências de 18,5% para neosporose e 7,4% para leptospirose. Estes resultados foram estatisticamente semelhantes ($\chi^2 = 2,95$, $p = 0,09$), conforme Tabela 4.

Para os municípios de Viçosa e Mercês, as soroprevalências encontradas foram, respectivamente, de 13,9% e 27,8% para neosporose, 8,3% e 5,6% para leptospirose (Tabela 4). Não se verificou existência de diferenças estatisticamente significativas entre as prevalências das infecções para cada municípios (Viçosa: χ^2 correção de Yates = 0,14, $p = 0,71$; Mercês: χ^2 correção de Yates = 1,80, $p = 0,18$) e também quando foram comparadas as prevalências destas entre as duas regiões (neosporose: χ^2 correção de Yates = 0,75, $p = 0,39$ e leptospirose: χ^2 correção de Yates = 0,03, $p = 0,85$) (Tabela 4).

Dos quatro soros caninos positivos para leptospirose, os sorovares identificados foram uma amostra para Canicola (título de 400); uma para Pyrogenes (título de 200) e duas para Castelonis e Pyrogenes (título de 400).

Tabela 4 – Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Leptospira* sp. em cães, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Município	Animais	Enfermidades			
		Neosporose		Leptospirose	
		Casos	Prevalência (%) (IC 95%)*	Casos	Prevalência (%) (IC 95%)
Viçosa	36	5	13,9 ^{al} (5,2-30,3)	3	8,3 ^{al} (2,2-23,6)
Mercês	18	5	27,8 ^{al} (10,7-53,6)	1	5,6 ^{al} (0,3-29,4)
Total	54	10	18,5^a (9,7-31,9)	4	7,4^a (2,4-18,7)

* Intervalo de confiança ao nível de significância de 95%.

No corpo de tabela, prevalências seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam que existe diferença estatística ao nível de significância de 95%.

No corpo de tabela, prevalências seguidas de números diferentes na mesma coluna indicam que existe diferença estatística ao nível de significância de 95%.

É interessante ressaltar que nenhum dos cães das propriedades apresentou antecedentes de infecções, sendo que apenas um dos proprietários alegou que seu cão, sempre que copulava alguma cadela, a ninhada era abortada ou os filhotes nasciam e morriam após alguns dias.

Os resultados obtidos revelam, para ambas as infecções, possivelmente a presença de animais infectados nas áreas pesquisadas. Diversos trabalhos publicados descrevem estudos sobre a ocorrência de anticorpos em cães para *N. caninum* e *Leptospira* sp. no Brasil. Assim, FERNANDES et al. (2004) relatam a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de áreas urbanas, periurbanas e rurais da cidade de Uberlândia, Minas Gerais. Os autores coletaram 450 amostras (300 da zona urbana, 58 da periurbana e 92 da zona rural) observando 14% de prevalência, sendo 10,7% na área urbana, 18,9% na área periurbana e 21,7% na área rural. Diferenças estatísticas foram encontradas entre as ocorrências em zona urbana e rural ($p = 0,01$).

No Estado da Paraíba, a soroprevalência da neosporose canina também foi estudada a partir de 286 amostras de sangue coletadas durante a campanha de vacinação anti-rábica realizada em setembro de 2003. Foram identificados 24 cães positivos e prevalência de 8,4% (AZEVEDO et al., 2004). Na cidade de Monte Negro-RO, Cânon-FRANCO et al. (2003) identificaram 13 (8,3%) animais positivos de um total de 157 amostras de soro canino analisadas.

A leptospirose em cães tem sido estudada a partir de inquéritos soropidemiológicos realizados em várias regiões do Brasil, com resultados de prevalências bastante variados. A maior parte desses estudos aponta, adicionalmente, os sorovares *canicola*, *icterohaemorrhagiae* e *autumnalis* como os mais prevalentes em cães (SANTA ROSA et al., 1974; YASUDA et al., 1980; AVILA et al., 1998; ALVES et al., 2000; LILENBAUM et al., 2000; MODOLO et al., 2000; VIEGAS et al., 2001a; VIEGAS et al., 2001b; MASCOLLI et al., 2002; SILVA et al., 2002; SILVA, 2003).

A comparação entre os resultados encontrados pelos estudos realizados, a partir de inquéritos epidemiológicos, sobre prevalência de leptospirose canina é difícil, uma vez que as amostras utilizadas podem apresentar problemas de precisão e validade. Entretanto, os resultados encontrados apontam o estado de Minas Gerais com a prevalência mais baixa, menor que 10% (SANTA ROSA et al., 1974), semelhante ao verificado nas regiões de Viçosa e Mercês (Tabela 4).

Apesar da dificuldade de se inferir sobre o real papel desempenhado por estes animais nas áreas investigadas, podemos apontar para seu significado epidemiológico, uma vez que os cães são reconhecidamente hospedeiros deste patógenos.

No caso da neosporose, o significado é mais evidente, uma vez que o cão atua como hospedeiro intermediário e hospedeiro definitivo do *N. caninum*, sendo essencial para a manutenção do ciclo biológico. Na transmissão horizontal, as fezes de cães contaminadas com oocistos são a principal fonte de infecção para os hospedeiros intermediários, dentre os quais, os bovinos (McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999; LINDSAY & DUBEY, 2000; BASSO et al., 2001; DUBEY et al., 2002).

4.4. Neosporose bovina segundo a ocorrência de distúrbio reprodutivo

A informação sobre ocorrência de problemas reprodutivos individualizada para cada animal não pode ser coletada de forma adequada, pela dificuldade do informante, na maioria das vezes, identificar o tipo de problema e o respectivo animal que o apresentou ou não. Dessa forma, a análise a seguir foi realizada a partir da caracterização do tipo de problema reprodutivo e do histórico da sua ocorrência ou não na propriedade. De forma adicional, as comparações entre prevalência de doença e problemas reprodutivos só foram possíveis para a neosporose, uma vez que essa doença foi a que apresentou o maior número de animais positivos.

Os distúrbios reprodutivos foram divididos em três categorias, sendo que, considerando conjuntamente os dois municípios, o distúrbio mais prevalente nas propriedades foi abortamento (28,3%), seguido de morte perinatal (19,7%) e repetição de cio (13,0%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise de associação entre propriedade positiva para neosporose bovina e distúrbio reprodutivo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Distúrbio reprodutivo	Propriedade		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positiva	Negativa		
Presente	28	10	38	5,6
Ausente	7	14	21	(1,53 – 21,33)
Total	35	24	59	-

¹ $\chi^2 = 9,13$; $p < 0,01$.

² Intervalo de confiança.

Quando relacionamos a prevalência de neosporose bovina nas propriedades com a ocorrência de qualquer problema reprodutivo, encontramos associação significativa ($\chi^2 = 9,13$; $p = 0,003$) com odds ratio (OR) de 5,6 (IC 95% = 1,53 - 21,33) (Tabela 5). Nesse sentido, as propriedades com animais positivos para neosporose bovina tiveram, aproximadamente, seis vezes mais chance de apresentar qualquer problema reprodutivo do que as propriedades sem animais positivos.

A análise desagregada por tipo de problema reprodutivo também apresentou associação estatisticamente significativa ($\chi^2 = 9,16$; $p = 0,027$), inclusive indicando graus diferentes de risco entre as diferentes categorias de distúrbios reprodutivos (χ^2 para linearidade = 2,86; $p = 0,235$. χ^2 'slope' = 6,26; $p = 0,01$. Slope = 0,15). Assim, a chance de propriedades com bovinos positivos para neosporose terem histórico de 'mortalidade perinatal' foi seis vezes maior (OR = 6,0 e IC 95% = 1,22 – 29,45) do que para aquelas negativas. De forma semelhante, a categoria 'abortamento' também apresentou associação significativa com a neosporose bovina, com chance de histórico de ocorrência desse distúrbio, aproximadamente, cinco vezes maior (OR = 5,2 e IC 95% = 1,32 – 20,54) para as propriedades positivas. A categoria 'repetição de cio' não apresentou associação com a doença, uma vez que o intervalo da odds ratio incluiu o valor um (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise de associação entre propriedade positiva para neosporose bovina e tipo de distúrbio reprodutivo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Distúrbio Reprodutivo	Propriedade		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positiva	Negativa		
Ausente	7	14	21	1,0
Abortamento	13	5	18	5,2 (1,32-20,54)
Mortalidade perinatal ³	9	3	12	6,0 (1,22-29,45)
Repetição de cio	6	2	8	6,0 (0,95-37,77)
Total	35	24	59	-

¹ χ^2 para linearidade = 2,86; p = 0,235. χ^2 'slope' = 6,26; p = 0,01. Slope = 0,15.

² Intervalo de confiança.

³ Mortalidade perinatal inclui os casos de mortalidade neonatal e de natimortos.

Existem inúmeros relatos evidenciando a associação entre a ocorrência de abortamento em virtude da infecção por *N. caninum* (DUBEY & LINDSAY, 1996; RIVERA et al., 2000; DIJKSTRA et al., 2002; JENKINS et al., 2002; HOBSON et al., 2004; KASHIWAZAKI et al., 2004; MELLADO et al., 2004; SADREBAZZAZ et al., 2004; MOORE, 2005). A presença de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas somente indica a exposição ao parasita, entretanto, a probabilidade de ocorrer abortamento em vacas soropositivas é o dobro do que em vacas soronegativas (WOUDA et al., 1998; RIVERA et al., 2000; JENKINS et al., 2002; OTRANTO et al., 2003).

MOORE (2005) associa a prevalência de neosporose bovina com abortamentos antecedentes no rebanho. Kashiwazaki et al. (2004), ao testarem amostras de bovinos, encontraram associação significativa entre a ocorrência de abortamentos com a soropositividade das vacas (p = 0,025). Contribuem para esta afirmativa os resultados de HOBSON et al. (2004), os quais indicam associações positivas entre a ocorrência de abortamento no rebanho com a soroprevalência de *N. caninum* (OR = 1,1), com a taxa de retenção de placenta (OR = 1,2) e com a taxa de repetição de cio após prenhez confirmada (OR = 1,2).

O diagnóstico dos abortamentos bovinos pelo *N. caninum* apresenta limitações, sendo necessário considerar a adaptação do parasita no rebanho e a frequência de sua transmissão transplacentária, sendo que em muitos casos a infecção fetal não resulta em abortamento (JENKINS et al., 2002). Às vezes não é possível relacionar a

soroconversão com a ocorrência do abortamento, indicando que infecções poderão continuar ocorrendo sem serem percebidas no rebanho (DIJKSTRA et al., 2002).

Pode ocorrer também a não associação entre a soropositividade de mães e filhas, mas isto só afasta a hipótese de transmissão transplacentária (vertical), mantendo a possibilidade infecção horizontal e, com isso, o risco de problemas reprodutivos (DIJKSTRA et al., 2002; KASHIWAZAKI et al., 2004).

Para evitar se superestimar a ocorrência de abortamentos por *N. caninum*, é importante comprovar o diagnóstico através de dados histopatológicos e, ou, demonstração sorológica fetal e materna (JENKINS et al., 2002). Apesar de não ter sido objeto desse estudo a comprovação dos casos de abortamento segundo o bio-agente patogênico envolvido, fica evidente que as propriedades com animais positivos ao *N. caninum* apresentam maior chance de história de distúrbios reprodutivos do que aquelas com ausência de bovinos positivos. Estes resultados permitem sugerir a participação desse agente na ocorrência de problemas reprodutivos em rebanhos bovinos.

4.5. Neosporose bovina segundo a presença de cães positivos na propriedade

A análise da existência de associação entre a ocorrência de neosporose bovina e a presença de cães nas propriedades foi realizada considerando o total de bovinos pesquisados (296) e, conforme o resultado sorológico para *N. caninum*, se havia cão positivo na propriedade ou não.

O resultado da análise indicou a existência de associação entre as variáveis ($\chi^2 = 23,3$; $p < 0,01$), sendo que bovinos positivos ao *N. caninum* tiveram, aproximadamente, sete vezes mais chance (OR = 6,55 e IC 95% = 2,62 – 16,59) de estarem presentes em propriedades com presença de cão também positivo, do que bovinos negativos (Tabela 7).

A soroprevalência de neosporose em bovinos tem sido amplamente relacionada com a presença de cães nas propriedades (PARÉ et al., 1998; BARTELS et al., 1999; DIJKSTRA et al., 2001; DIJKSTRA et al., 2002; GUIMARÃES JR et al., 2004); sendo também relacionada à presença de cães positivos (WOUDA et al., 1999; KIM et al., 2003; OTRANTO et al., 2003).

Os cães são importantes na epidemiologia do parasita porque são os únicos hospedeiros capazes de excretar oocistos nas fezes (GENNARI et al., 2002). Isto é significativo para a manutenção do ciclo do parasita, uma vez que é bastante freqüente a

Tabela 7 – Análise de associação entre bovinos positivos para *N. caninum* e presença de neosporose canina na propriedade, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Propriedades com Cão	Bovinos		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95% ²)
	Positivo	Negativo		
Positivo	16	10	26	6,55 (2,26-16,59)
Negativo	53	217	270	
Total	69	227	296	-

¹ $\chi^2 = 23,3$; $p < 0,01$.

² Intervalo de confiança.

ocorrência de cães defecando em pasto, silagem ou outro tipo de alimentação dos bovinos (DIJKSTRA et al., 2002), apesar de que pode ocorrer de cães infectados não eliminarem oocistos de *N. caninum* em suas fezes (BASSO et al., 2001).

Um dado importante coletado durante nossas visitas foram os relatos dos informantes em relação ao fato de que, animais de propriedades vizinhas freqüentavam as dependências da propriedade pesquisada, apesar de nesta última não haver cães ou destes serem mantidos presos quando existiam. Outro comentário de alguns proprietários foi da localização da propriedade muito próxima à rodovia, facilitando a entrada de onde cães soltos/vadios à procura de abrigo e alimento. DIJKSTRA et al. (2002) se referem à presença de cães de outras propriedades, com histórico de abortamento, como fator de risco para ocorrência de abortamentos por *N. caninum* em rebanhos bovinos. Apesar dos autores não apresentarem dados de observação dos cães ingerindo produtos de abortamento, observaram que estes defecavam nas proximidades do feno e silagem dos animais. Nesse sentido, muito embora os resultados encontrados neste trabalho tenham demonstrado a existência de associação entre a presença de cão e bovino positivos para *N. caninum*, não se pode desconsiderar a possibilidade de ocorrência de bovinos positivos mesmo em propriedades com ausência de cão ou cão positivo.

A presença de cães positivos ou não nas propriedades foi também relacionada à existência de problemas reprodutivos em bovinos. Entretanto, não se verificou a existência de associação entre as variáveis ($p = 0,1046$, para teste exato de Fisher), conforme Tabela 8.

Tabela 8 – Análise de associação entre problema reprodutivo em bovinos e presença de neosporose canina na propriedade, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Neosporose canina	Problema reprodutivo		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Presente	Ausente		
Presente	8	2	10	3,65 (0,61-38,28)
Ausente	23	21	44	
Total	31	23	54	-

¹ p = 0,1046, teste exato de Fisher.

² Intervalo de confiança.

A análise estratificada considerando as propriedades positivas para neosporose canina e os tipos de problemas reprodutivos em bovinos também não resultou em associação estatisticamente significativa (Tabela 9), muito embora a literatura aponta a existência de associação entre presença de cães nas propriedades e ocorrência de problemas reprodutivos, a exemplo do estudo realizado por HOBSON et al. (2005), que verificaram risco 2,8 vezes maior (IC 95% = 1,03 - 7,46) para ocorrência de abortamento bovino em propriedades que apresentavam maior número de cães.

Tabela 9 – Análise de associação entre propriedade positiva para neosporose canina e tipo de distúrbio reprodutivo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Distúrbio reprodutivo	Propriedade		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positiva	Negativa		
Ausente	2	19	21	1,0
Abortamento	5	14	19	3,39 (0,57-20,10)
Mortalidade perinatal ⁽³⁾	3	7	10	4,07 (0,56–29,73)
Repetição de cio	2	6	8	3,17 (0,36–27,58)
Total	12	46	58	-

¹ χ^2 para linearidade = 1,05; p = 0,592. χ^2 'slope' = 1,53; p = 0,216. Slope = 0,06.

² Intervalo de confiança.

³ Mortalidade perinatal inclui os casos de mortalidade neonatal e de natimortos.

A ausência de associação muito provavelmente se deu em função da análise ter sido feita considerando o número de propriedades e este ser reduzido. Não foi possível realizarmos esta avaliação considerando os bovinos, uma vez que, durante a aplicação do questionário, os proprietários/informantes não souberam indicar especificamente quais animais tinham ou não história de problema reprodutivo.

4.6. Neosporose bovina segundo o acesso de cães ao alimento dos bovinos

Na análise da existência de associação entre a ocorrência de neosporose bovina e o acesso de cães ao alimento dos bovinos, consideramos o total de bovinos pesquisados (296) e se haviam cães na propriedade ou de outro dono que circulavam livres nestas.

Na maioria das propriedades estudadas (80,4%), os cães tinham acesso às dependências dos animais, conseqüentemente, ao alimento destes, como, por exemplo, pasto, silagem, capineira ou ração. Contudo, não identificamos a existência de associação entre as variáveis (OR = 4,15 e IC 95% = 0,99 – 36,93) (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise de associação entre bovinos positivos para *N. caninum* e acesso de cães ao alimento dos bovinos, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Acesso de cães ao alimento dos bovinos	Bovinos		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos		
Sim	67	202	269	4,15
Não	2	25	27	(0,99 – 36,93)
Total	69	227	296	-

¹ $\chi^2 = 4,20$; $p = 0,04$.

² Intervalo de confiança.

A contaminação de reservatórios de alimentos de bovinos por oocistos eliminados pelas fezes de cães foi identificada como fator de risco para infecção por McALLISTER et al. (1998), quando determinaram serem os cães os hospedeiros definitivos para o *N. caninum*. BARTELS et al. (1999), ao identificarem associação significativa entre a presença de cães e a soropositividade de bovinos, também a justificaram pelo fato dos cães defecarem nas adjacências e contaminarem os alimentos dos bovinos (silagem, por exemplo). De forma semelhante, HOBSON et al. (2005) identificaram associação positiva entre a frequência com que os cães eram observados

defecando no pasto e o abortamento por neospora no rebanho bovino (OR = 2,8 e IC 95% = 1,06 - 7,24).

Assim sendo, mesmo que na presente análise não se tenha encontrado associação entre estes fatores, muito provavelmente o que explica a associação entre bovinos e cães positivos é o convívio entre as duas espécies, onde facilmente ocorre contaminação do alimento fornecido aos bovinos com fezes caninas e, conseqüentemente, com oocistos de *N. caninum*.

4.7. Prevalência de neosporose em propriedades segundo o tipo de exploração e o sistema de produção

A maioria das propriedades (84,5%) estudadas trabalhava com bovinocultura leiteira, mas algumas também realizavam recria de machos, neste caso, foram classificadas como sistema misto de produção (15,5%).

A análise de associação entre o perfil sanitário para neosporose bovina e o tipo de exploração indicou a existência de associação entre as variáveis ($\chi^2 = 4,72$; $p = 0,03$), sendo que os bovinos soropositivos tiveram, aproximadamente, três vezes mais chance (OR = 2,82 e IC 95% = 1,05 – 9,52) de pertencerem tipo de exploração leite do que tipo misto (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise de associação entre bovinos positivos para *N. caninum* e o tipo de exploração, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Tipo de exploração	Bovinos			Odds Ratio ¹ (IC 95%) ⁽²⁾
	Positivos	Negativos	Total	
Leite	64	186	250	2,82 (1,05 – 9,52)
Misto	5	41	227	
Total	69	227	296	-

¹ $\chi^2 = 4,72$; $p = 0,03$.

² Intervalo de confiança.

Alguns trabalhos destacam que a diferença de manejo e o estilo dos rebanhos podem ser responsáveis pelas diferenças na soropositividade dos rebanhos (MOORE et al., 2002; OTRANTO et al., 2003; MOORE, 2005). OTRANTO et al. (2003)

trabalharam com 387 amostras de bovinos leiteiros e 385 de corte e encontraram 11,4% e 6,0% de soroprevalência para *N. caninum*, respectivamente, para estes rebanhos. A maior soroprevalência em rebanhos leiteiros em relação aos rebanhos de corte também foi encontrada por Moore et al. (2002), onde, a partir de 1.448 amostras, sendo 1.048 de leite e 400 de corte, identificaram 16,6% e 4,7% de soropositividade, respectivamente ($p = 0,001$).

A diferença de soropositividade verificada para os diferentes tipos de rebanhos, provavelmente está relacionada ao maior tempo de permanência dos animais de leite no sistema de produção, aumentando a chance de exposição ao *N. caninum* com conseqüente alteração do nível de anticorpos. No caso de animais de corte, como o ciclo produtivo é mais rápido, a chance de infecção e soroconversão são reduzidas.

Outra questão que se coloca e verificada neste estudo é o fato de que, geralmente, as criações leiteiras estão mais próximas da sede da propriedade para facilitar o trabalho de reunir o rebanho para ordenha (duas ou três vezes no dia) e alimentação dos animais (ração, silagem, capim picado etc.). Já o rebanho de corte é agrupado, quando muito, uma vez na semana para avaliação da presença de ectoparasitas e oferecimento de sal mineral. Neste sentido, como os cães residem nas sedes das fazendas, a exposição ao risco de infecção é maior para o rebanho leiteiro do que para o de corte, pois existe maior chance de contaminação dos alimentos destes bovinos.

A neosporose bovina também foi analisada em relação ao sistema de produção, sendo este dividido em duas categorias: propriedades que mantinham os animais a pasto e aquelas que tratavam os animais em algum momento do dia (alimentação com silagem, ração, capim picado etc.). A análise não revelou associação entre as variáveis ($\chi^2 = 1,19$; $p = 0,28$) (Tabela 12).

Os sistemas de produção são mencionados por MELO et al. (2001), que associaram o manejo de vacas a pasto à baixa soroprevalência nos rebanhos quando comparados com rebanhos mantidos em “freestall” ($p < 0,05$). Estes autores sugerem que o estresse é também responsável pela diferença de prevalência entre rebanhos confinados e não confinados.

Os dados de sorologia apresentados mostram a presença do protozoário, que apesar de não encontrarmos relevância estatística, apresentou-se superior (25,1%) em propriedades com semiconfinamento do que onde os animais são mantidos a pasto (19,3%) (Tabela 12). Desta forma, outros fatores ainda não esclarecidos podem estar envolvidos na determinação da infecção no rebanho, como, por exemplo, o estresse do manejo e o fato de as propriedades melhor tecnificadas utilizarem inseminação artificial,

Tabela 12 – Análise de associação entre bovinos positivos para *N. caninum* e o sistema de produção, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Sistema de produção	Bovinos			Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos	Total	
Semiconfinamento	51	152	203	1,40 (0,74 – 2,68)
A pasto	18	75	93	
Total	69	227	296	-

¹ $\chi^2 = 1,19$; $p = 0,28$.

² Intervalo de confiança.

ou mesmo adquirirem produtos de inseminação (machos e fêmeas filhas de vacas inseminadas). Nesse sentido, sêmen contaminado teria importância na epidemiologia da neosporose bovina, o que poderia ser evidenciado através da detecção de DNA de *Neospora* sp. no sêmen, como é sugerido por CAETANO-DA-SILVA et al. (2004) após terem encontrado moderada prevalência de *N. caninum* em machos bovinos cronicamente infectados.

4.8. Prevalência de neosporose segundo a prevalência de brucelose e leptospirose no rebanho

A associação entre neosporose bovina e existência de outras enfermidades relacionadas à ocorrência de abortamentos foi testada para brucelose e leptospirose, sendo que não encontramos significância estatística para ambas as enfermidades: brucelose ($p = 0,64$, teste exato de Fisher) (Tabela 13) e leptospirose ($p = 0,44$, teste exato de Fisher) (Tabela 14). Os resultados das sorologias mostram que há infecção concomitante apenas entre brucelose e neosporose, sendo que não encontramos animais que fossem positivos para leptospirose e neosporose.

Como são responsáveis por transtornos reprodutivos, neosporose, brucelose e leptospirose já foram pesquisadas em fetos abortados por RIVERA et al. (2000). De forma semelhante, neosporose e brucelose foram pesquisadas, dentre outras doenças, em investigação de ocorrência de abortamento por WOUDA et al. (1999a) e BARTELS et al. (1999) investigaram a ocorrência de leptospirose como fator de risco para o

Tabela 13 – Análise de associação entre bovinos positivos para *N. caninum* e bovinos positivos para brucelose, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Brucelose	Neosporose			Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos	Total	
Positivos	3	10	13	0,99 (0,17 – 3,98)
Negativos	66	217	283	
Total	69	227	296	-

¹ p = 0,64, teste exato de Fisher.

² Intervalo de confiança.

Tabela 14 – Análise de associação entre bovinos positivos para *N. caninum* e bovinos positivos para leptospirose, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Leptospirose	Neosporose			Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos	Total	
Positivos	0	3	3	0,00 (0,00 – 8,00)
Negativos	69	224	293	
Total	69	227	296	-

¹ p = 0,44, teste exato de Fisher.

² Intervalo de confiança.

abortamento por *N. caninum*. Entretanto, nenhum destes trabalhos encontrou prevalência de anticorpos para leptospirose e brucelose, que as tornassem significativamente associadas à ocorrência de neosporose bovina.

4.9. Prevalência de neosporose canina segundo sexo e faixa etária

A análise de associação entre neosporose canina e sexo e a idade do animal apontaram para a não existência de associação entre as variáveis, seja para sexo (p = 0,55, teste exato de Fisher) (Tabela 15) ou para idade (p = 0,34, teste exato de Fisher) (Tabela 16).

De forma geral, a literatura não caracteriza a neosporose canina associada ao sexo do animal, conforme revelam os estudos de FERNANDES et al. (2004), que não

Tabela 15 – Análise de associação entre neosporose canina e sexo, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Sexo	Neosporose canina			Odds ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos	Total	
Fêmeas	4	16	20	1,17
Machos	6	28	34	(0,21 – 5,79)
Total	10	44	54	-

¹ p = 0,55, teste exato de Fisher.

² Intervalo de confiança.

Tabela 16 – Análise de associação entre neosporose canina e faixa etária, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Faixa Etária	Neosporose canina			Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos	Total	
Até 1 ano	1	10	11	0,38
Acima de 1 ano	9	34	43	(0,01 – 3,42)
Total	10	44	54	-

¹ p = 0,34, teste exato de Fisher.

² Intervalo de confiança.

encontraram diferenças estatisticamente significativas entre machos (14,2%) e fêmeas (7,5%); CAÑON-FRANCO et al. (2003) e AZEVEDO et al. (2004). Entretanto, WOUDA et al. (1999) encontraram taxa de soroprevalência em fêmeas (14,1%) significativamente maior que em machos (6,8%) (p = 0,01).

Em relação à idade muitos autores fazem comparações entre faixas etárias. A alta soroprevalência em cães acima de 12 meses de idade em comparação com cães abaixo desta idade foi descrita na Argentina por BASSO et al. (2001), demonstrando exposição pós-natal. Da mesma forma, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* apresentou aumento estatisticamente significativo (p < 0,05) com a idade dos cães durante os sete primeiros anos de vida, apresentando um ligeiro decréscimo (estatisticamente não significativo), em cães com oito anos ou mais (WOUDA et al., 1999). Estudo realizado em fazendas leiteiras do estado de Minas Gerais revelou que

cães acima de um ano de idade também apresentaram uma maior soroprevalência (25,7%) do que cães abaixo desta idade (9%) (SOUZA et al., 2002). Apesar destes autores encontrarem resultados concordantes, dois outros trabalhos não relacionaram a idade como fator de risco para infecção por *N. caninum*: um realizado em Minas Gerais (FERNANDES et al., 2004) e outro na Amazônia (CAÑON-FRANCO et al., 2003).

No presente trabalho, apesar de ter sido encontrada maior prevalência de infecção em cães acima de um ano de idade (20,9%) do que nos de até 1 ano (9,1%), a diferença não foi estatisticamente significativa, conforme (Tabela 15).

4.10. Prevalência de neosporose canina segundo o hábito e tipo de alimentação do cão

Para estas análises consideramos o ‘hábito’ como sendo o modo de vida dos cães nas propriedades, se ficavam presos em uma área isolada ou se ficavam soltos na fazenda. Para a variável ‘tipo de alimentação’, os animais foram separados em duas categorias: aqueles que só se alimentam de ração e, ou, comida caseira e aqueles que além de sua alimentação habitual, também se alimentavam de restos de animais e produtos de abortamentos.

Em relação ao hábito dos cães, os resultados revelaram animais positivos apenas dentre aqueles que vivem soltos. A análise de associação apresentou significância estatística ($p = 0,08$, teste exato de Fisher), entretanto, o intervalo de confiança da *odds ratio* inclui o valor 1, indicando que, na verdade, não existe associação entre as variáveis. Interessante notar que, se o resultado da análise da intensidade de associação entre as variáveis fosse significativo, a categoria relativa ao hábito de viver preso, aparentemente caracterizaria fator de proteção para a neosporose canina (Tabela 17).

Tabela 17 - Análise de associação entre neosporose canina e hábito do animal, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Hábito	Neosporose canina			Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos	Total	
Preso	0	11	11	0,00 (0,00 – 1,89)
Solto	10	33	43	
Total	10	44	54	-

¹ $p = 0,08$, teste exato de Fisher.

² Intervalo de confiança.

Trabalho realizado por FERNANDES et al. (2004) demonstra que cães com acesso à estrada ou que possuem contato com outros animais são mais freqüentemente infectados, sugerindo que os cães soltos estariam mais expostos ao risco de infecção do que os cães presos.

Considerando a análise em relação à variável ‘tipo de alimentação’, verificamos que 50% dos animais recebiam, além de sua alimentação habitual, restos de animais e produtos de abortamentos e 11,1% eram alimentados apenas com ração e, ou, comida caseira, entretanto, a diferença verificada não foi estatisticamente significativa ($p = 0,06$, teste exato de Fisher) (Tabela 18).

Tabela 18 – Análise de associação entre neosporose canina e tipo de alimentação, municípios de Mercês e Viçosa, 2004

Tipo de alimentação	Neosporose canina		Total	Odds Ratio ¹ (IC 95%) ²
	Positivos	Negativos		
Ração ou comida caseira	4	6	10	4,00
Restos de animais/Produtos de abortamentos	32	12	44	(0,80-21,15)
Total	36	18	54	-

1 χ^2 correção de Yates = 2,59; $p = 0,11$.

2 Intervalo de confiança.

O tipo de alimentação dos cães tem sido alvo de diversos estudos, inclusive procurando relacionar a origem do animal à maior prevalência de neosporose. Assim, BASSO et al. (2001) e FERNANDES et al. (2004) apontam que cães procedentes de fazendas possuem maior prevalência de neosporose, sugerindo que o contato com o rebanho seja um fator de risco para a infecção, uma vez que esses animais teriam maior acesso a restos de animais e, ou, produtos de abortamento. Considerando o tipo de alimento, OTRANTO et al. (2003) relacionam a presença de galinhas na fazenda com a ocorrência de neosporose em cães e bovinos, lembrando que os cães podem adquirir a infecção ao ingerirem a carne infectada destas aves. PATITUCCI et al. (2001) também verificaram percentuais mais elevados de neosporose entre cães que ingeriam carne crua (29,5% de 71) do que entre aqueles que não o faziam (7% de 65). CAÑÓN-FRANCO et al. (2003) mencionam prevalência superior entre cães que consumiam dieta caseira (96,2%) em comparação com cães cuja alimentação era à base somente de ração (3,8%).

Ainda que a análise dessa variável guarde problemas no controle de possível confundimento, uma vez que o relato dos proprietários pode não ser totalmente verdadeiro em função dos cães, em sua grande maioria, viverem soltos e, nesse sentido, o controle do tipo de alimento ingerido não ser pleno, ela é relevante na medida em que demonstra a elevada possibilidade de manutenção do ciclo de transmissão do *N. caninum*, uma vez que é prática recorrente a alimentação de cães com restos de animais ou produtos de abortamento de bovinos. Nesse sentido, salientamos, como umas das atividades centrais no controle da neosporose bovina, a necessidade de orientação aos proprietários/produtores de se eliminar essa prática nas propriedades.

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A infecção por *N. caninum*, problema emergente na bovinocultura de leite no país, traduzida na ocorrência de problemas reprodutivos nos animais, foi evidenciada em propriedades localizadas nos municípios de Mercês e Viçosa, estado de Minas Gerais, com prevalências de bovinos positivos de 23,8% e 22,6%, respectivamente. A pesquisa também revelou a ocorrência de infecção por *Brucella* e *Leptospira*, porém em proporções significativamente ($p < 0,01$) inferiores. Considerando a prevalência das infecções por animal, as proporções de animais positivos para *N. caninum* foram significativamente mais elevadas ($p < 0,01$) que para *Brucella* e *Leptospira* em ambos os municípios. Estes achados sugerem que a neosporose é enfermidade que vem assumindo significado sanitário nos rebanhos.

As características da infecção por *N. caninum* em ambas as localidades seguiu padrão que vem sendo descrito na literatura, como a associação da infecção com a ocorrência de problemas reprodutivos em bovinos ($p < 0,01$), sendo o abortamento (OR = 5,2; IC = 1,32-20,54) e a mortalidade perinatal (OR = 6,0; IC = 1,22-29,45) os eventos mais intensamente associados com a neosporose bovina. Não se pode negar um possível envolvimento de patógenos como *Brucella* e *Leptospira*, e outros agentes infecciosos ou de outra natureza, que não foram objeto do presente estudo, na etiologia dos problemas reprodutivos; entretanto, as reduzidas prevalências de animais positivos para *Brucella* e *Leptospira*, contrastada com o elevado percentual de animais positivos para *N. caninum*, permitiu sugerir a mais intensa participação deste último patógeno na etiologia dos problemas relatados.

Dentre as propriedades investigadas identificou-se 13,9% e 27,8% de cães positivos para *N. caninum*, respectivamente, nos municípios de Viçosa e Mercês. A ocorrência de infecção em bovinos também esteve associada ($p < 0,01$) à presença de cães positivos para *N. caninum* na propriedade, reforçando o papel destes na epidemiologia da neosporose, como hospedeiro intermediário e reservatório desse patógeno no ambiente.

O tipo de exploração dos animais foi outra variável evidenciada, pela pesquisa, como associada ($p = 0,03$) à infecção por *N. caninum* em bovinos, sendo que os animais positivos apresentaram maior chance (odds ratio = 2,82 e IC = 1,05 – 9,52) de pertencerem à exploração do tipo leite do que misto.

Outros aspectos que têm sido associados à epidemiologia da neosporose bovina como, acesso de cães aos alimentos dos bovinos, sistema de produção (em confinamento ou a pasto) e a co-infecção por outros patógenos também considerados agentes etiológicos de problemas reprodutivos (a exemplo da *Brucella abortus* Leptospira sp.), não foram identificados como associados à infecção bovina por *N. caninum*.

Com relação à neosporose canina, as variáveis sexo, faixa etária, hábito do animal e tipo de alimentação também não estiveram associadas à infecção canina por *N. caninum*, embora vários estudos desenvolvidos no Brasil e no exterior revele situação inversa. Aparentemente, em nosso caso, um dos problemas relacionado aos resultados de análise de associação encontrados, diz respeito à pequena amostra de cães investigada.

Ressalta-se a necessidade de desenvolvimento de estudos para melhor esclarecimento de aspectos relacionados à epidemiologia da neosporose bovina, como a possibilidade de existência de outras fontes de infecção, a exemplo da água de consumo animal. Outra questão relevante é o escrutínio do real envolvimento dos diversos bioagentes patogênicos relacionados ao abortamento infeccioso em rebanhos bovinos que apresentam co-infecção, para melhor definição de prioridades de intervenção.

Especificamente em relação à neosporose bovina, é importante a atenção das autoridades e instituições de saúde animal, na medida em que, este agravo está relacionado a problemas reprodutivos em animais, com conseqüentes perdas econômicas e sociais e, aparentemente, ocorrendo nas populações bovinas em proporções nada desprezíveis. Na medida em que ainda não existem intervenções efetivas e de mais fácil uso pelos produtores, a exemplo de vacinas, para a prevenção da infecção, a educação sanitária deve ser entendida como aspecto não negligenciável no controle e prevenção dessa doença.

ANEXO

1) Técnica de imunofluorescência indireta:

- fixar com acetona as lâminas sensibilizadas com taquizoítos;
- secar à temperatura ambiente;
- adicionar de 10 μ L a 15 μ L dos soros diluídos em cada poço;
- incubar em câmara úmida a 37°C por 40 minutos;
- lavar duas vezes: 1ª com PBS - FA por 5 minutos e 2ª com água destilada por 10 minutos
- secar à temperatura ambiente;
- adicionar de 10 μ L a 15 μ L do conjugado diluído nos poços;
- incubar em câmara úmida a 37 °C por 40 minutos;
- lavar duas vezes: 1ª com PBS - FA por 5 minutos e 2ª com água destilada por 10 minutos
- secar à temperatura ambiente no escuro;
- adicionar o anti-FAD nas lamínulas (4 μ L) e montar as lâminas;
- realizar a leitura em microscópio de fluorescência, identificando a ocorrência de fluorescência total do taquizoíto (reação positiva) ou não (reação negativa).

As etapas descritas acima foram seguidas de forma semelhante seja par ao soro bovino ou canino. As diferenças se constituíram no fato de que, para as amostras bovinas o soro foi diluído em 1:100 (1 μ L de soro + 99 μ L de PBS-FA) e o conjugado,

em 1:300 (1 μ L de conjugado + 299 μ L de PBS-FA). Para as amostras caninas, o soro foi diluído em 1:50 (1 μ L de soro + 49 μ L de PBS-FA) e o conjugado, em 1:40 (1 μ L de conjugado + 39 μ L de PBS-FA). Para a realização da técnica foram também utilizados soros controle positivos e negativos.

Soluções utilizadas nas técnicas de detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum*

PBS-FA Solução-mãe 10x

NaCl -----80 g
KCl -----2 g
Na₂HPO₄ -----15 g
KH₂PO₄ -----2 g
H₂O dd -----1000 mL

* Para usar diluir 1:10 e ajustar pH para 7,2

Solução de DABCO para imunofluorescência

PBS pH 7,4
NaCl 0,14 M ----- 8,16 g
Na₂HPO₄ 0,01 M ----- 1,41 g
H₂O ----- 1000 mL
Glicerol

Para fazer o líquido de montagem, misturar 9 partes de glicerol com 01 parte de PBS pH 7,4, ou seja, para 10 mL de solução usar 9 mL de glicerol e 1 mL de PBS.

Solução de DABCO 2,5% (W/V)

Líquido de montagem ----- 50 mL
DABCO ----- 1,25 mL

OBS.: Estocar em frasco escuro à temperatura ambiente. Para melhorar a solubilidade, aquecer um pouco a solução.

2) Prova do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) ou “AAT”

- depositar 0,03 ml (30 µL) de soro em um dos quadros da placa;
- adicionar uma gota de antígeno ao lado da cada porção de soro a ser testado;
- misturar soro e antígeno com o bastão em um círculo com diâmetro ao redor de 2,3 a 2,4 cm;
- homogeneizar a mistura com movimentos rotativos da placa, durante quatro minutos;
- realizar a leitura da placa sobre fundo branco, identificando a ocorrência de grumos (reação positiva) ou não (reação negativa).

3) Método do 2- Mercaptoetanol

- adicionar com pipeta de 0,2 mL ou de Bang, em quatro tubos de hemólise, as seguintes quantidades do soro a ser testado: 0,08; 0,04; 0,02 e 0,01 mL;
- adicionar 1 mL da solução de mercaptoetanol em cada tubo de hemólise;
- incubar à 37°C por uma hora;
- acrescentar, a cada tubo, 1 mL do antígeno diluído;
- incubar à 37°C por 48 horas;
- realizar a leitura, identificando a ocorrência de aglutinação (reação positiva) ou não (reação negativa).

4) Soroaglutinação em tubo (SAT) - método lento

- adicionar, com pipeta de 0,2 ml ou de Bang, em quatro tubos de hemólise, as seguintes quantidades do soro a ser testado: 0,08; 0,04; 0,02 e 0,01 mL.
- acrescentar 2 mL de antígeno diluído a cada tubo;
- incubar à 37°C por 48 horas.
- realizar a leitura, identificando a ocorrência de aglutinação (reação positiva) ou não (reação negativa).

A interpretação dos resultados das provas confirmatórias foi realizada conforme as Tabelas 1 A e 2A.

Tabela 1A – Interpretação do teste de soroaglutinação lenta e do teste do 2-ME para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, vacinadas entre três e oito meses de idade

Teste de soroaglutinação lenta (UI¹/ml)	Teste do 2-ME (UI¹/ml)	Interpretação
≤ 50	< 25	Negativo
≥ 100	< 25	Inconclusivo
≥ 25	≥ 25	Positivo

¹ UI – Unidade Internacional.
Fonte: MAPA (2003).

Tabela 2A – Interpretação do teste de soroaglutinação lenta e do teste do 2-ME para fêmeas não vacinadas e machos com idade superior a 8 meses

Teste de soroaglutinação lenta (UI¹/ml)	Teste do 2-ME (UI¹/ml)	Interpretação
≤ 25	< 25	Negativo
≥ 50	< 25	Inconclusivo
≥ 25	≥ 25	Positivo

¹ UI – Unidade Internacional.
Fonte: MAPA (2003).

5) Técnica de aglutinação microscópica rápida:

- colocar duas fileiras de tubos de hemólise, a primeira com 0,8 mL e a segunda com 0,9 mL de salina tamponada Sorensen pH 7,2;
- adicionar 0,2 mL de cada soro a ser testado na 1^a fileira e agitar bem;
- retirar 0,1 mL destes tubos para a segunda fileira e agitar bem;
- retirar 0,05 mL deste tubo e colocar nos orifícios das placas de porcelana, tantas quanto forem ser usadas as amostras de sorovars. Ex: 2 sorovars, 1 gota 0,05 mL do soro a ser testado em dois orifícios da placa de porcelana.
- pingar com pipeta de 1 mL, uma gota do sorovar, em cada amostra de soro diluído;
- agitar e deixar em repouso por 5 (cinco) minutos;

- introduzir a alça de platina no orifício da placa de porcelana e retirar uma gota de cada soro diluído e colocar na lâmina;

- realizar a leitura em microscópio de campo escuro, identificando a ocorrência de aglutinação ou não conforme os seguintes critérios:

- negativo = ausência de aglutinação, com número de células idêntico ao do controle.

- 1+ = presença de aglutinação, com 75% de leptospiros livres;

- 2+ = presença e aglutinação, com 50% de leptospiros livres;

- 3+ = presença e aglutinação, com 25% de leptospiros livres;

- 4+ = presença e aglutinação abaixo de 25% de leptospiros livres.

O soro que aglutinou somente em grau 1+ ou “lisou”, no máximo, 25% das leptospiros em relação ao controle, é também considerado negativo, sendo significativo apenas acima de 2+.

O soro que, na prova de triagem, mostrou uma redução do número de leptospiros livres da ordem de 50 a 100% em relação ao controle, foi submetido ao mesmo procedimento já descrito, porém com as diluições de 1:100 até 1:800.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKCA, A.; GOKCE, H. I.; GUY, C. S.; MCGARRY, J. W.; WILLIAMS, D. J. L. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. *Research in Veterinary Science*, v. 78, p. 123-126, 2005.

ALVES, C. J.; ANDRADE, J. S. L.; VASCONCELLOS, S. A.; MORALS, Z. M.; AZEVEDO, S. S.; SANTOS, F. A. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Leptospira* em cães no município de Patos – PB, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 1, p. 17-21, 2000.

ANDRESON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 60, p. 417-431, 2000.

ANDERSON, M. L.; REYNOLDS, J. P.; ROWE, J. D.; SVERLOW, K. W.; PACKHAM, A. E.; BARR, B. C.; CONRAD, P. A. Evidence of vertical transmission of *Neospora sp* infection in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 210, p. 1169-1172, 1997.

ÁVILA, M. O.; FURTADO, L. R. I.; TEIXEIRA, M. M.; ROSADO, R. L. I.; MARTINS, L. F. S.; BROD, C. S. Aglutininas anti-leptospíricas em cães na área de influência do centro de controle de zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 107-110, 1998.

AZEVEDO, S. S.; BATISTA, C. S. A.; VASCONCELLOS, D. M.; AGUIAR, D. M.; RAGOZO, A. M. A.; RODRIUES, A. A. R.; ALVES, C. J.; GENNARI, S. M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, northeast region of Brazil. *Research in Veterinary Science*, 2004 (Artigo em impressão). Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 6 jan. 2005.

BARBOSA, M. Aglutininas e lisinas anti-leptospira em soros de bovinos, eqüinos e suínos em Minas Gerais. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, Belo Horizonte, v. 14, p. 1-26, 1962.

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; DAFT, B. M.; KINDE, H.; CONRAD, P. A. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Veterinary Pathology*, v. 27, p. 354-361, 1990.

BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; BREITMEYER, R.; SVERLOW, K.; ANDERSON, M. L.; REYNOLDS, J.; CHAUVET, A. E.; DEBEY, J. P.; ARDANS, A. A. Congenital *Neospora* infections in calves born from cows that had previously aborted *Neospora* - infected fetuses: four cases (1990-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 202, p. 113-117, 1993.

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*, v. 52, p. 247-257, 1999.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; MOORE, D. P.; RAMBEAU, M.; UNZAGA, J. M.; CAMPERO, C.; BACIGALUPE, D.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. *Journal of Parasitology*, v. 87, p. 906-907, 2001.

BAUMGARTEN, D. Brucellosis: a short review of the disease situation in Paraguay. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 63-69, 2002.

BJERKAS, I.; PRESTHUS, J. Immunohistochemical and ultrastructural characteristics of a cyst – forming sporozoan associated with encephalomyelitis and myositis in dogs. *Acta Pathological Microbiological Immunol. Scand*, v. 96, n. 5, p. 445-454, 1988.

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift fur Parasitenkunde*, v. 70, p. 271-274, 1984.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. *Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose – PNCEBT – Versão Preliminar*, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonose e Animais Peçonhentos. *Manual de leptospirose*. 4. ed. Brasília: FUNASA, 1999. 98 p.

CAETANO-DA-SILVA, A.; FERRE, I.; ADURIZ, G.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; DEL-POZO, I.; ATXAERANDIO, R.; REGIDOR-CERRILLO, J.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ORTEGA-MORA, L. M. *Neospora caninum* infection in breeder bulls: seroprevalence and comparison of serological methods used for diagnosis. *Veterinary Parasitology*, v. 124, p. 19-24, 2004.

CAÑÓN-FRANCO, W. A.; 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*, v. 115, p. 71-74, 2003.

CUDDON, P.; LIN, D. S.; BOWMAN, D. D.; LINDSAY, D. S.; MILLER, T. K.; DUNCAN, I. D.; DELAHUNTA, A.; CUMMINGS, J.; SUTER, M.; COOPER, B. *Neospora caninum* infection in English Springer spaniel littermates. Diagnostic evaluation and organism isolation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 6, n. 6, p. 325-332, 1992.

DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1189-1194, 1999.

DHALIWAL, G. S.; MURRAY, R. D.; ELLIS, W. A. Reproductive performance of dairy herds infected with *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* relative to the year of diagnosis. *The veterinary Record*, v. 138, n. 12, p. 272-276, 1996.

DIJKSTRA, T. H.; EYSKER, M.; SHARES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H. W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *International Journal for Parasitology*, v. 31, p. 747-752, 2001.

DIJKSTRA, T. H.; BARKEMA, H. W.; BJORKMAN, C.; WOUDA, W. A high rate of seroconversion for *Neospora caninum* in a dairy herd without an obvious increased incidence of abortions. *Veterinary Parasitology*, v. 109, p. 203-211, 2002.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 67, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton: CRC Press, 1988. 220 p.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. New recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 192, p. 1269-1285, 1988a.

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 193, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 84, p. 349-367, 1999.

FARIA, J. E.; RIBEIRO, M. F. B.; SANTOS, J. L.; PATARROYO, J. H. Diagnóstico da situação sanitária bovina do Estado de Minas Gerais. V. Prevalência de aglutininas antileptospira em soros sanguíneos de bovinos da zona da mata. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Belém-Pará, 1984. *Anais...* Belém-PA, 1984. p.225-230.

FÁVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Sorovares de leptospiras prevalentes em exames sorológicos de bubalinos, bovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos Estados brasileiros. *Ciência Rural*, v. 32, p. 613-619, 2002.

FERNANDES, B. C. T. M.; GENNARI, S. M.; SOUZA, S. L. P.; CARVALHO, J. M.; OLIVEIRA, W. G.; CURY, M. C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 123, p. 33-40, 2004.

FIGLIOULO, L. P. C.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; AGUIAR, D. M.; KASAI, N.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Research*, v. 55, p. 29-32, 2004.

GENNARI, S. M.; YAI, L. E. O.; DÁURIA, S. N. R.; CARDOSO, S. M. S.; KWOK, O. C. H.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 106, p. 177-179, 2002.

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

HAY, W. H.; SHELL, L. G.; LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 197, n. 1, p. 87-89, 1990.

HEMPHIL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology*, v. 112, p. 183-197, 1996.

HOBSON, J. C.; DUFFIELD, T. F.; KELTON, D.; LISSEMORE, K.; HIETALA, S. K.; LESLIE, K. E.; McEWEN, B.; PEREGRINE, A. S. Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. *Veterinary Parasitology*, v. 127, p. 177-188, 2005.

JENKIS, M.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Internatinal Journal for Parasitology*, v. 32, p. 631-636, 2002.

- JOLLEY, W. R.; McALLISTER, M. M.; McGUIRE, A. M.; WILLS, R. A. Repetitive abortion in *Neospora* - infect ewes. *Veterinary Parasitology*, v. 82, p. 251-257, 1999.
- JULIANO, R. S.; CHAVES, N. S. T.; SANTOS, C. A.; RAMOS, L. S.; SANTOS, H. Q.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; FILHO, R. A. C. C. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia – GO. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 857-862, 2000.
- KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R. E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, v. 120, p. 139-144, 2004.
- KIM, J. H.; KANG, M. S.; LEE, B. C. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and raccon dogs in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, v. 41, n. 4, p. 243-245, 2003.
- KYAW, T.; VIRAKUL, P.; MUANGYAI, M.; SUWIMONTEERABUTR, J. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle in central Thailand. *Veterinary Parasitology*, v. 121, p. 255-263, 2004.
- LANGONI, H.; SOUZA, L. C.; SILVA, A. V.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PAES, A. C.; LUCHESIS, S. B. Incidence of leptospiral abortion in Brazilian dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 40, p. 271-275, 1999.
- LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 75, p. 249-251, 2003.
- LILENBAUM, W.; SANTOS, M. R. C. Leptospirose em Reprodução Animal: III. Papel do sorovar *hardjo* nas leptospiroses bovinas no Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Latino Americana de Microbiologia*, v. 37, p. 87-92, 1995.
- LILENBAUM, W.; SANTOS, M. R. C. Effect of management systems on the prevalence of bovine leptospirosis. *The Veterinary Record*, v. 138, p. 570-571, 1996.
- LILENBAUM, W.; RODRIGUES, F.; BARBOSA, F. Aglutininas anti-leptospiras em caninos do município amazônico de Oriximina-Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 3, p. 133-135, 2000.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *American Journal of veterinary Research*, v. 50, p. 1981-1983, 1989.
- LINDSAY, D. S.; STEINBERG, H.; DUBIELZIG, R. R.; SEMRAD, S. D.; KONKLE, D. M.; MILLER, P. E.; BLAGBURN, B. L. Central nervous system neosporosis in foal. *American Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 8, p. 507-510, 1996.
- LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *Internatinal Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1521-1523, 1999.

MADRUGA, C. R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Frequência de aglutininas anti-leptospira em bovinos de corte da região sul de cerrado do Estado de Mato Grosso. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, Belo Horizonte, v. 32, n. 2, p. 245-249, 1980.

MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; MORAIS, Z. M.; PINTO, C. O.; SUCUPIRA, M. C. A.; DIAS, R. A.; MIRAGLIA, F.; CORTEZ, A.; DA COSTA, S. S.; TABATA, R.; MARCONDES, A. G. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 69, n. 2, p. 25-32, 2002.

McALLISTER, M. M. Uncovering the Biology and Epidemiology of *Neospora caninum*. *Parasitology Today*, v. 15, n. 6, p. 216-217, 1999.

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*, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

McALLISTER, M. M.; McGUIRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; LINDSAY, D. S.; TREES, A. J.; STOBART, R. H. Experimental Neosporosis in Pregnant Ewes and Their Offspring. *Veterinary Pathology*, v. 33, p. 647-655, 1996.

MELO, C. B. DE; LEITE, R. C.; SOUZA, G. N. DE; LEITE, R. C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.

MELO, C. B. DE; LEITE, R. C.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Pathology*, v. 119, p. 97-105, 2004.

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

MOREIRA, E. C.; MORAES, M. H. F.; HADDAD, J. P. A. Surto de leptospirose em bovinos leiteiros em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2, 1993, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte, 1993, p. 192.

MOREIRA, E. C.; SILVA, J. A.; VIANA, F. C.; SANTOS, W. L. M.; ANSELMO, F. P.; LEITE, R. C. Leptospirose Bovina: I – Aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 375-388, 1979.

MORENO, E. Brucellosis in Central America. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 31-38, 2002.

- ODIN, M.; DUBEY, J. P. Sudden death associated with *Neospora caninum* - myocarditis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 203, p. 831-833, 1993.
- OLIVEIRA, A. A.; MOTA, R. A.; PEREIRA, G. C.; LANGONI, H.; SOUZA, M. I.; NAVEGANTES, W. A.; SA, M. E. Seroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns Municipal District, Pernambuco State, Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 68, p. 275-279, 2001.
- OTRANTO, D.; LLAZARI, A.; TESTINI, G.; TRAVERSA, D.; REGALBONO, A. F. D.; BADAN, M.; CAPELLI, G. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Veterinary Parasitology*, v. 118, p. 7-18, 2003.
- OVIEDO, T. J. S. *Infecção experimental de ovelhas deslanadas com Neospora caninum*. 2001. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, 1998.
- PATITUCCI, A. N.; PÉREZ, M. J.; ROZAS, M. A.; ISRAEL, K. F. Neosporosis canine: detection of sera antibodies in rural and urban canine population of Chile. *Arquivos de Medicina Veterinária*, v. 33, p. 227-232, 2001.
- PERL, S.; HARRUS, S.; SATUCHNE, C.; YAKOBSON, B.; HAINES, D. Cutaneous neosporosis in dog in Israel. *Veterinary Parasitology*, v. 79, n. 3, p. 257-261, 1998.
- PETERS, M.; LUTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cyst in skeletal muscle of naturally infected dogs and cattle. *International Journal for Parasitology*, v. 31, p. 1144-1148, 2001.
- PETERSEN, E.; LEBECH, M.; JENSEN, L.; LIND, P.; RASK, M.; BAGGER, P.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A. *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. *Emerging Infectious diseases*, v. 5, n. 2, 1999.
- POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 55-62, 2002.
- RENDE, J. C.; ÁVILA, F. A. Leptospirose Bovina: Perfil epidemiológico e dinâmica da infecção como zoonose. *ARS Veterinária*, Jaboticabal, SP, v. 19, n. 1, p. 71-79, 2003.
- RIBEIRO, A. R. P.; LOBATO, F. C. F.; ABREU, V. L. V.; FARIA, E. S.; SILVA, J. A. Prevalência de tuberculose e brucelose bovina no município de Ilhéus. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 1, p. 120-122, 2003.

RIBEIRO, S. C. A.; GOUVEIA, M. A. V.; SILVA, P. L.; OLIVEIRA, P. R.; BARBOSA, F. C.; MAMEDE, D. O. Levantamento sorológico em dois surtos de leptospirose bovina, em Uberlândia, Triângulo Mineiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 40, n. 6, p. 415-423, 1988.

RIBEIRO, S. C. A.; MOREIRA, E. C.; GOMES, A.G.; VALE, C. Infecção por *Leptospira interrogans*, numa fazenda de Minas Gerais, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 40, n. 2, p. 405-413, 1988a.

RIVERA, H. G.; NELSON, D.; TABACCHI, L. N. *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2000.

RODRIGUES, A. A. R.; GENNARI, S. M.; AGUIAR, D. M.; SREEKUMAR, C.; HILL, D. E.; MISKA, K. B.; VIANNA, M. C. B.; DUBEY, J. P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 124, p. 139-150, 2004.

RODRIGUES, C. G.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C. Leptospirose Bovina: sorologia na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 29, p. 309-314, 1999.

RYU, E. Rapid microscopic agglutination test for *Leptospira* without non-specific reaction. *Bulletin Oficina Internacional de Epizootias*, v. 73, p. 49-59, 1970.

SADREBAZZAZ, A.; HADDADZADEH, H.; ESMAILNIA, K.; HABIBI, G.; VOJGANI, M.; HASHEMIFESHARAKI, R. Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. *Veterinary Parasitology*, v. 124, p. 201-204, 2004.

SAWADA, M.; PARK, C. H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *Journal Veterinary Medical Science*, v. 60, n. 7, p. 853-854, 1998.

SILVA, W. B. *Frequência de resultados sorológicos antileptospíricos em cães da área territorial urbana de Botucatu – SP, de acordo com o local, manejo de criação e pavimentação da rua*. 2003. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

SOUZA, S. L. P.; GUIMARÃES, J. S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Parana, Brazil. *Journal Parasitology*, v. 88, p. 408-409, 2002.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of tachyzoites, bradizoytes and tissue cyst of *Neospora caninum*. *Journal of Protozoology*, v. 36, p. 458-463, 1989.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P.; McALLISTER, M. M.; BLIXT, J. A. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradizoytes and tissue cyst of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1509-1519, 1999.

THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis – Like Abortions in a Herd of Dairy Cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 1, p. 205-209, 1989.

VIEGAS, S. A. R. A.; TAVARES, C. H. T.; OLIVEIRA, E. D. D. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador – Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 2, p. 21-30, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *World processing, database and statistics program for public health (EpiInfo)*. Versão 6.04b. Genebra: WHO, 1997.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T. H.; KRAMER, A. M. H.; MAANEN, C. VAN; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *International Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1677-1682, 1999.

WOUDA, W.; MOEN, A. R.; SCHUKKEN, Y. H. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, v. 49, n. 7, p. 1311-1316, 1998.

YASUDA, P. H.; SANTA ROSA, C. A.; YANAGUITA, R. M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 11, p. 589-596, 1980.

APÊNDICE

QUESTIONÁRIO PARA INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA NEOSPOROSE	
Características da propriedade	
PROPRIEDADE (NOME):	
PROPRIETÁRIO:	
ENDEREÇO:	
ANIMAIS NA PROPRIEDADE/ NÚMERO: Cães () - n°: ____ Bovinos () - n°: ____ Outros animais () - n°: ____ ; espécie: _____	
CARACTERÍSTICA DA BOVINOCUTURA: Subsistência () Semi-confinamento () Confinamento () À pasto ()	
AQUISIÇÃO DE BOVINOS: Sim () Não ()	SE HOUVE A AQUISIÇÃO, DATA:
AQUISIÇÃO/ NASCIMENTO DE CAES: Sim () Não ()	DATA DA AQUIS./NASCIM. DE CAES:
Características do(s) cão(es), se presente(s)	
IDADE/ ANIMAL (S):	
LOCAL DE ACESSO: Solto(s) () Preso(s) em canil/corrente () Presos parte do dia () Acesso ao local de armazenamento de ração/ silagem do gado ()	
ALGUM ANIMAL JÁ ESTEVE DOENTE: Sim () Não ()	
SE SIM, QUAL A SINTOMATOLOGIA: Paresia dos membros posteriores () Paralisia espástica () Dificuldade em deglutir () Paralisia de mandíbula () Ataxia () Flacidez () Atrofia muscular () Dermatite () Alterações respiratórias () Alterações gastrintestinais () Nenhum desses ()	
ANIMAL DOENTE VEIO A ÓBITO OU FOI SACRIFICADO: Sim () Não ()	
HÁBITOS ALIMENTARES: Ração () Comida Caseira () Restos de animais () Produtos de abortamento ()	
Características dos bovinos	
NÚMERO ADULTOS: Machos: _____ Fêmeas: _____	
NÚMERO DE BEZERROS: Machos: _____ Fêmeas: _____	
TIPO DE ALIMENTAÇÃO: À pasto () silagem () capim picado () feno () ração () outros ()	
HISTÓRICO DE OCORRÊNCIA DE: ABORTAMENTO: Sim () Não () NATIMORTO: Sim () Não () MORTALIDADE NEONATAL: Sim () Não () REPETIÇÃO DE CIO: Sim () Não ()	
DATA DO ÚLTIMO ABORTAMENTO:	

<p>BEZERROS DOENTES APRESENTAM:</p> <p>Baixo peso () Dificuldade em levantar () Membros flexionados/hiperextendidos ()</p> <p>Ataxia () Decréscimo do reflexo patelar () Exoftalmia () Assimetria ocular ()</p> <p>Nenhum desses ()</p>
<p>FORAM REALIZADOS EXAMES COMPLEMENTARES DE BEZERRO(S) DOENTE(S): Sim () Não ()</p>
<p>SE SIM, QUAIS OS EXAMES REALIZADOS/ RESULTADOS:</p>
<p>FORAM REALIZADOS EXAMES NOS ANIMAIS QUE ABORTARAM:</p> <p>Sim () Não ()</p>
<p>SE SIM, QUAIS OS EXAMES REALIZADOS/ RESULTADOS:</p>
<p>ANIMAIS DOENTES SÃO DESCARTADOS: (ABATE)</p> <p>Sim () Não ()</p>
<p>ANIMAIS DOENTES SÃO DESCARTADOS: (VENDA)</p> <p>Sim () Não ()</p>