



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL**

LEONARDO MACHADO LOPES

**ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella
abortus e Leptospira sp. EM SUÍNOS DO ESTADO DO PARÁ**

BELÉM

2013



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL**

LEONARDO MACHADO LOPES

**ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella
abortus e Leptospira sp. EM SUÍNOS DO ESTADO DO PARÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção animal na Amazônia: área de concentração Saúde & Meio Ambiente, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr.º. Washington Luiz Assunção Pereira

Co-orientador: Prof. Dr.º. Alexandre do Rosário Casseb

BELÉM

2013

Lopes, Leonardo Machado

Anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. em suínos do Estado do Pará. / Leonardo Machado Lopes. - Belém, 2013.

90 f.: Il.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2013.

1. Suínos – anticorpos - Pará 2. Toxoplasma gondii – incidência
3. Neospora caninum 4. Brucella abortus – incidência 5. Leptospira
6. Controle zoonótico I. Título.

CDD – 636.40896957



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL**

LEONARDO MACHADO LOPES

**ANTICORPOS ANTI-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella
abortus e Leptospira sp. EM SUÍNOS DO ESTADO DO PARÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde & Meio Ambiente, para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 30 de agosto de 2013.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^o. Dr^o. Washington Luiz Assunção Pereira - Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof^a. Dr^a. Hilma Lucia Tavares Dias - 1^o Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Prof^o. Dr^o. Gustavo Góes Cavalcante - 2^o Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Prof^o. Dr^o. José de Arimatéia Freitas - 3^o Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Washington Luiz Assunção Pereira pela amizade, pelo otimismo, pelo incansável apoio e pela inesgotável paciência.

Ao colega Alex Júnior Souza de Souza que forneceu contribuição mais que essencial para tornar possível esta pesquisa.

Ao professor Frederico Ozanan, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, pela calorosa hospitalidade com que me recebeu ao longo destes mais de dois anos em que estive cursando o mestrado na UFRA.

Aos professores Alexandre do Rosário Casseb, Adriano Vitti Mota, Sebastião Tavares Rolin Filho, Janaína Araújo, Cristina Mano que prestaram apoio fundamental à execução deste trabalho.

Os professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Solange Maria Gennari, Antonio Humberto Hammad Minervino, Hebert Sousa Soares e Juliana Isabel, pela dedicação no processamento laboratorial das amostras utilizadas neste trabalho.

Aos colegas do LaboPat Bernard Gemaque, Leopoldo Moraes, Suellem Monger, Ana Cláudia Albuquerque, Dioneu Albuquerque, Roberta Aguirra, Paulo Henrique Leal Bertolo, Sara Letícia e Ana Carolina Pereira, sem os quais não teria sido possível a execução deste trabalho.

Aos tratadores e proprietários Alan (Igarapé-miri), Sr. Domience (Ilha do Mosqueiro), Ledson (Granja Suinorte, Benevides), Geovanni (Granja Murakami, Castanhal), João (IFPA-Castanhal) pela prestatividade sempre presente.

Aos acadêmicos Nilo Emanuel Noronha Júnior, Iroleide Jesus, Érika Dayane Leal Rodrigues que cederam parte de seu tempo pessoal para dar apoio às atividades desenvolvidas nesta pesquisa.

RESUMO

A suinocultura no Estado do Pará é de pequeno e médio porte, sendo a mesma desenvolvida por produtores rurais com mão-de-obra predominante familiar e de baixo nível tecnológico, condições que favorecem a instalação e disseminação de enfermidades nos animais, algumas de caráter zoonótico. Considerando estes fatores e a importância dos suínos como fonte de subsistência e de renda para as populações amazônicas, o presente estudo procurou investigar a ocorrência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus, Leptospira sp., em criações de suínos no Estado do Pará. Foram avaliadas 310 amostras de soro de suínos das Mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó, colhidas diretamente nas criações ou no abate, e submetidas às provas sorológicas de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para a pesquisa de anticorpos contra T. gondii e N. caninum e do antígeno acidificado tamponado (AAT) para a pesquisa de anticorpos contra Brucella abortus. Destas amostras, 305 foram examinadas através da soroprecipitação microscópica (SAM) para a pesquisa de anticorpos contra Leptospira sp. A ocorrência de sororreagentes para T. gondii foi de 6,77%, para N. caninum 5,16%, para Brucella abortus 5,16% e para Leptospira sp. de 1,61%. Não foi encontrada diferença estatística entre as amostras de soros procedentes de criações e as procedentes de abate, exceto para Brucella abortus (0% e 3,31%, respectivamente), o mesmo não foi observado na comparação entre abate com e sem Serviço Estadual de Inspeção. Na Mesorregião Metropolitana de Belém, ocorreu maior frequência de anticorpos anti-N. caninum (5,17%) e menor de anti-Brucella abortus (0,0%), na Mesorregião Nordeste Paraense a maior frequência foi de anticorpos anti-Leptospira sp. (6,11%) e a menor de anti-Brucella abortus (0,44%) e na Mesorregião do Marajó foram mais frequentes os anticorpos anti-T. gondii (21,4%) e menos frequentes os anti-Leptospira sp. (0,0%). A investigação de fatores de risco revelou, para T. gondii, que a presença de gatos contribuiu para a redução da infecção. Em relação ao N. caninum, o despejo de efluentes no solo e o uso de mão-de-obra familiar e a alimentação com restos de açougue apareceram como fatores que aumentam o risco de infecção. Os resultados deste estudo possibilitaram concluir que a ocorrência de anticorpos contra T. gondii, N. caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. na população estudada é baixa. Em relação às mesorregiões, a frequência de suínos sororreagentes para T. gondii, N. caninum e Brucella abortus é significativamente maior na Mesorregião do Marajó do que nas outras duas investigadas. A presença de anticorpos contra T. gondii abrange criações de todos os municípios estudados, sendo considerados os roedores como possíveis fontes de infecção. Conforme análise de fatores de risco para infecção por N. Caninum, as condições precárias de manejo e de higiene favorecem a infecção em suínos. Na população estudada ocorre sororreagentes para Leptospira sp. sorovar Castellonis, Copenhageni, Pomona Australis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, com predominância do Icterohaemorrhagiae. Os resultados sugerem a participação de roedores sinantrópicos e silvestres no ciclo epidemiológico da infecção pela Leptospira sp. nos suínos estudados.

Palavras-chaves: Suínos, Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus, Leptospira, anticorpos.

ABSTRACT

Swine production in Pará State, Brazil, is mainly a family labor that occurs in small to medium-sized properties. The low technological level employed favours the onset and spread of both herd and zoonotic diseases. Thus, considering the importance of pigs for subsistence and income of amazonic populations, the present study aimed to investigate the occurrence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, *Leptospira* sp. in pigs from Pará State. Serum samples of 310 pigs from the Mesoregions Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense and Marajó, were picked up directly in the farms or in slaughterhouses for research of anti-*T. gondii* and anti-*N. caninum* antibodies, by indirect immunofluorescence antibody test (IFAT), and anti-*B. abortus*, by rose bengal test (RBT). Part of the samples (n=305) was sent to microscopic agglutination test (MAT) for detection of *Leptospira* sp antibodies. The occurrence of seropositives was 6.77% for *T. gondii*, 5.16% for *N. caninum*, 5.16% for *B. abortus* and 1.61% for *Leptospira* sp. There was no statistical difference between samples from farms and slaughters, except for *B. abortus* (0% and 31.3%, respectively). The results obtained in slaughter with and without inspection service were not statistically different. In the Mesoregion Metropolitana de Belém, the highest frequency was for *N. caninum* (5.17%) and the lowest for *B. abortus* (0.0%), in the Mesoregion Nordeste Paraense the highest frequency was for *Leptospira* sp. (6.11%) and the lowest for *B. abortus* (0.44%) and in the Mesoregion Marajó the largest frequency was for *T. gondii* (21.4%) and the lowest for *Leptospira* sp. (0.0%). The investigation of risk factors revealed that the presence of cats reduces the infection rate by *T. Gondii* in pigs. Risk factor to *N. Caninum* were: discharge of effluents into the soil, use manpower family and feeding with remnants of butcher. From the amount of results obtained this study it was concluded that the occurrence of antibodies against *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* and *Leptospira* sp. in the investigated population is low; the frequency of pigs seropositive for *T. gondii*, *N. caninum* and *B. abortus* is significantly higher in the Mesoregion of Marajó than in the others; the occurrence of antibodies against *T. gondii* covers all municipalities studied, were rodents are possible sources of infection; infection of pigs by *N. caninum* stems from precariousness of management and lack of hygiene; the serovars of *Leptospira* sp. Castellonis, Copenhageni, Pomona Australis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes and Icterohaemorrhagiae occurs in the sampled population due to the presence of synanthropic and wild rodents at the sites of creation .

Keywords: Swine, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, *Leptospira*, antibodies.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Geral	12
2.2	Específicos	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	Toxoplasma gondii	13
3.2	Neospora caninum	20
3.3	Brucella abortus	25
3.4	Leptospira sp.	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Animais e procedência das amostras de estudo	38
4.2	Método de colheita	39
4.3	Exames sorológicos	40
4.4	Processamento das amostras	41
4.4.1	Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI)	42
4.4.2	Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)	44
4.4.3	Soroaglutinação microscópica (SAM)	44
4.5	Análise dos fatores de risco	45
4.6	Análise estatística	45
5	RESULTADOS	46
5.1	Anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó	46
5.2	Anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus, e Leptospira sp. em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó conforme o sítio de colheita (criações e abatedouros)	48
5.3	Títulos de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó	50
5.4	Títulos de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó	52
5.5	Anticorpos contra sorovares de Leptospira sp. em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó	54
5.6	Anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum e Brucella abortus em soros de suínos nativos de municípios das mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense	55

5.7	Anticorpos anti--Leptospira sp. em soros de suínos nativos de municípios das mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense	56
5.8	Fatores de risco associados com a infecção por Toxoplasma gondii e por Neospora caninum em suínos criados no Estado do Pará	59
6	DISCUSSÃO	60
6.1	Toxoplasma gondii	60
6.2	Neospora caninum	63
6.3	Brucella abortus	66
6.4	Leptospira sp.	68
7	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICE A	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	RIFI de <i>Neospora</i> sp. em vaca.	22
Figura 2 -	Relação entre pluviosidade mensal e ocorrência de leptospirose no Município de Belém no ano de 2008.	32
Figura 3 -	Frequência de anticorpos contra <i>T. gondii</i> , <i>N. caninum</i> , <i>B. abortus</i> e <i>Leptospira</i> sp. em soros de suínos nativos de três mesorregiões do Estado do Pará: Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó.	46
Figura 4 -	Frequência de suínos sororreagentes contra <i>T. gondii</i> , <i>N. caninum</i> , <i>B. abortus</i> e <i>Leptospira</i> sp. nas Mesorregiões Metropolitana de Belém (A), Nordeste Paraense (B) e do Marajó (C).	47
Figura 5 -	Frequência de anticorpos contra <i>T. gondii</i> , <i>N. caninum</i> , <i>B. abortus</i> e <i>Leptospira</i> sp. em soros de suínos colhidos em criações e em estabelecimentos de abate do Estado do Pará.	48
Figura 6 -	Frequência de soros de suínos reagentes contra <i>T. gondii</i> , <i>N. caninum</i> , <i>B. abortus</i> e <i>Leptospira</i> sp. procedentes de criações (A), abate com S.I.E. (B) e abate sem S.I.E. (C) no Estado do Pará.	49
Figura 7 -	Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra <i>T. gondii</i> em soros sanguíneo de leitões procedentes de criações e de abates do Estado do Pará.	50
Figura 8 -	Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra <i>T. gondii</i> em amostras colhidas em criações e estabelecimentos de abate do Estado do Pará.	51
Figura 9 -	Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra <i>N. caninum</i> nas Mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó.	52
Figura 10 -	Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra <i>N. caninum</i> em soros de leitões procedentes de criações e de estabelecimentos de abate do Estado do Pará.	53
Figura 11 -	Frequência de sorovares de <i>Leptospira</i> sp. em amostras de soro suíno colhidas em criações e estabelecimentos de abate do Estado do Pará.	54
Figura 12 -	Frequência de amostras de soros reagentes contra sorovares de <i>Leptospira</i> sp. em suínos criados em uma pequena propriedade do Município de Santo Antônio do Tauá, Pará.	57

Figura 13 - Frequência de suínos sororreagentes contra *Leptospira* sp. em uma propriedade localizada no Município de Santo Antônio do Tauá (PA) em função da idade dos animais.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Exames sorológicos utilizados no diagnóstico da infecção por <i>Neospora caninum</i>	21
Tabela 2 -	Sorogrupos e alguns soroves de <i>L. interrogans</i>	30
Tabela 3 -	Espécies genômicas de leptospiros e sorogrupos relacionados	31
Tabela 4 -	Quantidade de amostras de soros suínos provenientes de criações localizadas em municípios das mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém.	38
Tabela 5 -	Número de amostras de soros suínos provenientes de criações localizadas nas mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém em função da idade dos animais à colheita.	39
Tabela 6 -	Número de amostras de soros suínos provenientes das mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó e submetidas à pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> e anti- <i>N. caninum</i> pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI), anti- <i>B. abortus</i> pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e anti- <i>Leptospira</i> spp. pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) em função da mesorregião de origem dos animais.	40
Tabela 7 -	Número de amostras de soros suínos provenientes das mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó e submetidas à pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> e anti- <i>N. caninum</i> pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI), anti- <i>B. Abortus</i> pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e anti- <i>Leptospira</i> spp. pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) em função do estabelecimento onde foram colhidas.	40
Tabela 8 -	Número de amostras de soros suínos provenientes das mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém e submetidas à pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> e anti- <i>N. caninum</i> pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI), anti- <i>Leptospira</i> spp. pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) e anti- <i>Brucella abortus</i> . pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) em função dos municípios de origem e com o tipo de estabelecimento onde foram colhidas.	41
Tabela 9 -	Frequência de sororreagentes e títulos de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em suínos com <1 a 6 meses de idade criados em propriedades localizadas nas Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.	51
Tabela 10 -	Frequência de sororreagentes e títulos de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em suínos com <1 a 6 meses de idade criados em propriedades localizadas nas Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.	53

Tabela 11 -	Títulos de anticorpos contra sorovares de <i>Leptospira</i> sp. em amostras de soro suíno colhidas em criações e estabelecimentos de abate do Estado do Pará.	55
Tabela 12 -	Percentual de suínos sororreagentes contra <i>T. gondii</i> , <i>N. caninum</i> e <i>B. abortus</i> em sete municípios das Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.	56
Tabela 13 -	Percentual de suínos sororreagentes contra <i>Leptospira</i> sp. em sete municípios das Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.	57
Tabela 14 -	Variáveis identificadas como fatores de risco ou de proteção para infecção por <i>T. gondii</i> e por <i>N. caninum</i> em suínos criados das Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense (método de Mantel_Haenszel).	59

1 INTRODUÇÃO

No mundo, a carne suína é a principal fonte de proteína animal, superando as carnes bovina e de frango. Embora o mercado interno brasileiro não siga este padrão de consumo, o Brasil se destaca por uma elevada produção, que atende a demanda interna por produtos processados e a demanda internacional por carne suína in natura, ocupando o ranking de 4º maior produtor e exportador mundial deste commodity (MIELE; MACHADO, 2010).

Dados dos últimos censos agropecuários demonstram o bom desempenho da suinocultura brasileira, onde a produção de carcaça suína quase duplicou entre de 1996 a 2006, passando de 1.240.182 para 2.289.242 toneladas, e o percentual de exportações mais que quadruplicou no mesmo período, passando de 4,5% para 21,1% (IBGE, 2006).

Esses resultados foram alavancados pelo crescimento constante da suinocultura industrial nos últimos 35 anos, sustentado por programas de tecnificação que aperfeiçoaram a genética, a sanidade, a nutrição, as instalações e o manejo nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, onde se concentra a produção nacional (SCHULTZ, 2005; MIELE et al., 2011).

Na Região Norte, por outro lado, a suinocultura não apresentou os mesmos incrementos tecnológicos, caracterizando-se como produção de subsistência (autoconsumo) ou fonte complementar de renda através da comercialização regular ou esporádica em mercados consumidores locais. No Estado do Pará, por exemplo, a expansão da bovinocultura tem coincidido com um acentuado declínio do efetivo suíno, que praticamente não sofreu evolução ao longo dos anos, estando cada vez mais restrito às propriedades de pequeno porte (FERREIRA et al., 2000; GALVÃO et al., 2006; NOGUEIRA, 2010; IBGE, 2012).

Os dois maiores centros consumidores do Estado do Pará, Belém e Ananindeua, são abastecidos com carne suína de diferentes procedências, incluindo municípios das Mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó. A primeira se destaca por possuir o segundo maior rebanho estadual (27,7% do efetivo estadual), atuando como centro distribuidor de suínos para abate, recria, terminação e reprodução aos municípios circunvizinhos. A segunda apresenta uma pequena produção, representando 3% do efetivo estadual. A terceira responde pelo 3º maior rebanho suíno do estado (19,16% do efetivo estadual), criado predominantemente de forma extensiva (LUDOVINO; TOURRAND; VEIGA, 2000; COSTA, 2009).

Em todas as três mesorregiões mencionadas, as condições higiênico-sanitárias e ambientais nas propriedades suinícolas são precárias e deficientes, portanto, favoráveis à

manutenção e disseminação de infecções, algumas de caráter zoonótico, representando risco a tratadores, magarefes e consumidores (COSTA, 2009; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010; PELISSARI et al., 2011).

O comportamento, o desenvolvimento e os prejuízos resultantes de infecções que acometem rebanhos de suínos são heterogêneos e decorrem das particularidades inerentes a cada propriedade (PROTAS et al., 1985; WILSON et al., 1986). Dentre os agentes patogênicos que prejudicam as criações por diminuírem o fluxo de produção de leitões estão *Leptospira* spp., *Brucella* sp. e *Toxoplasma gondii*, que constituem causas de abortamento e infertilidade em suínos, com o agravante de serem endêmicas no mundo todo e possuírem caráter zoonótico (SILVEIRA, 2007; CARDOSO, 2009). Em relação ao *Neospora caninum*, estudos também demonstraram a ocorrência de atrasos nos índices reprodutivos de matrizes suínas infectadas naturalmente (KAMGA-WALADJO et al., 2009).

O controle dessas infecções, para ser efetivo, precisa ser substanciado pela investigação da distribuição das infecções e da saúde das populações, bem como dos fatores determinantes para a sua ocorrência (CHRISTENSEN, 2001). No entanto, no Brasil ainda há uma grande escassez de estudos referentes à sanidade suína, mesmo na regiões onde a suinocultura é mais desenvolvida (SALLES-FILHO; ZACKIEWICS, 2001; MORES; ZANELLA, 2005). No que diz respeito ao ecossistema amazônico, não há dados suficientes para a compreensão das particularidades etiológicas e epidemiológicas locais (AGUIAR et al., 2006).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a presença de anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. em soros de suínos provenientes de criações e de estabelecimentos de abate do Estado do Pará.

2.2 Específicos

- Avaliar e comparar a ocorrência de anticorpos contra Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. em suínos de abate com e sem inspeção sanitária oriundos das Mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó;
- Determinar e comparar a frequência de anticorpos contra Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. entre suínos procedentes de criações localizadas nas Mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém;
- Identificar fatores de risco para as infecções por Toxoplasma gondii e Neospora caninum em suínos de criações das Mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório pertencente ao filo Apicomplexa, subclasse coccídea (MONTROYA; LIESENFELD, 2004; DUBEY, 2008).

O ciclo de vida de *T. gondii* é heteroxeno e composto de três estágios infecciosos: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Taquizoítos são estágios intracelulares de rápida multiplicação que penetram nas células hospedeiras ativamente ou por fagocitose, possuem formato semi-lunar, medem de 2 a 6 μm e apresentam movimentos oscilatórios. Bradizoítos são formas de multiplicação lenta que permanecem no interior das células, replicando-se por endodiogenia e formando cistos teciduais esféricos ou alongados de até 100 μm de diâmetro em diferentes órgãos. Esporozoítos são estágios infectantes com 6 a 8 μm que se formam aos pares no interior de oocistos excretados pelo hospedeiro definitivo (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Hospedeiros definitivos do *T. gondii* são os felinos, que adquirem a infecção pela oocistos infectantes presentes no ambiente ao ingerir ou carne contaminada com bradizoítos encistados. Após ser ingerido, parasito invade enterócitos, se multiplicando assexuadamente por merogonia e sexuadamente por gametogonia. Oocistos imaturos, assim produzidos, são liberados para o meio exterior através das fezes, tornando-se infectivos dentro de 1 a 5 dias, quando então recebem a denominação de esporozoítos. Esporozoítos podem permanecer viáveis no ambientes por um período de até 12 meses (DUBEY, 2008; CARDOSO, 2009).

Nos hospedeiros intermediários, a ingestão de bradizoítos ou esporozoítos é seguida de reprodução assexuada no epitélio intestinal, produzindo taquizoítos. Estes migram pelas vias linfáticas ou sanguíneas para várias regiões do organismo, multiplicando-se no interior de macrófagos e monócitos ao longo de duas semanas. Uma vez iniciada a resposta humoral do hospedeiro, os taquizoítos são substituídos por bradizoítos, que são formas parasitárias menos ativas (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2003).

A estrutura populacional de *T. gondii* inclui três linhagens clonais altamente prevalentes, com 98% de similaridade genética, designadas como tipos I, II e III, que diferem quanto à virulência, que é alta no tipo I, moderada no tipo II e baixa no tipo III (BEHNKE et al., 2011). Assim, em camundongos, cepas do tipo II e III levam à infecção crônica e produção de cistos teciduais, enquanto que as cepas do tipo I causam níveis significativos de

parasitemia, aumentando o risco de transmissão transplacentária ou a severidade de infecção nos fetos em desenvolvimento (HOWE; SIBLEY, 1995).

Estes achados apresentam correlação clínica com a doença em humanos, que está geralmente associada ao tipo II em pacientes imunocomprometidos e ao tipo I nas infecções congênitas (FUENTES et al., 2001; MONTOYA; LIESENFELD, 2004). Em suíno, as três linhagens clonais são prevalentes (ZAKIMI et al., 2006), de forma que a elevada ocorrência de cistos teciduais em sua musculatura oferece risco para a saúde humana, haja visto que são estruturas resistentes ao resfriamento por até 4 semanas, ao congelamento por mais de uma semana e ao aquecimento por até 4 minutos a 6° C ou 10 minutos a 50°C (MILLAR et al., 2008).

Para os suínos a forma de infecção predominante é a transmissão horizontal, que acontece pela ingestão de oocistos presentes no solo, ingestão de roedores infectados ou através do canibalismo. No entanto, a transmissão transplacentária é a responsável pelas manifestações clínicas da infecção na espécie suína, produzindo morte e mumificação fetais, nascimentos pré-maturos e sintomas variados em leitões da maternidade nascidos de matrizes portadoras, incluindo dispnéia, febre, fraqueza, diarréia, sintomas nervosos e, raramente, perda da visão (SOLAYMANI-MOHAMMADI; PETRI JR., 2006).

Em matrizes prenhes, *T. gondii* localiza-se principalmente nos trofoblastos e, ocasionalmente, no epitélio das glândulas endometriais, ocasionando infiltração fagocitária difusa do endométrio e intensa necrose de células trofoblásticas e de regiões do cório-alantóide, produzindo pequenos focos de separação placentária que conduzem à morte fetal, seguida de aborto ou mumificação (DUBEY; URBAN JR.; 1990).

Fetos de fêmeas infectadas apresentam lesões amplamente distribuídas. No sistema nervoso central é verificada a encefalomielite não-supurativa, geralmente com focos hemorrágicos, necrose e gliose, podendo haver cistos de *T. gondii* em degeneração. Miocardite necrotizante severa é frequente, podendo conter mineralização ou taquizoítos nos miócitos. Na musculatura esquelética pode ser verificada miosite não-supurativa. Lesões menos comuns são pela hemorragia extensa e necrose hepática focal no fígado, bronquite necrotizante e infiltração mononuclear na retina (DUBEY et al., 1990).

Em relação ao diagnóstico da infecção por *T. gondii*, a detecção de anticorpos séricos é o método mais utilizado em suínos, podendo ser realizado através da reação da imunofluorescência indireta (RIFI) ou do teste de aglutinação direta modificada (MAT), que identificam anticorpos contra antígenos de superfície ou, ainda, pela hemaglutinação (HA) e

pelo ELISA, que detectam anticorpos tanto contra antígenos de membrana e quanto contra antígenos citoplasmáticos (SILVA et al., 2010).

Nos suínos, a infecção toxoplásmica produz uma resposta humoral baseada em anticorpos IgM, de curta duração e IgG, de duração prolongada. Títulos de IgM surgem poucos dias após a infecção e perduram por aproximadamente duas semanas. Em cerca de uma a duas semanas após a infecção inicia-se a produção de IgG, a qual se estabiliza em 3 a 6 semanas, persistindo ao longo de vários meses (LIND et al., 1997). Por isso, provas laboratoriais que detectam IgG são úteis para identificar tanto a infecção tardia quanto precoce. Essa classe de imunoglobulinas também possui importância na estimativa do início da infecção, que pode ser acessado através de ensaios de avidéz para IgG (SUARÉZ-ARANDA et al., 2000).

Anticorpos de origem materna podem ser identificados nos leitões até o 3 meses de vida (DUBEY; URBAN JR., 1990). Estão geralmente elevados na primeira semana de vida e, nos leitões cujas mães apresentam baixos títulos de anticorpos no sangue, observa ausência de soropositividade logo após a desmama, verificando-se a soroconversão geralmente na fase de terminação, onde os leitões entram em contato com alimentos e água contaminados e com roedores infectados, havendo maior risco de infecção (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2010a)

Os métodos que têm se mostrado mais eficientes para a detecção de anti-corpos IgG contra *T. gondii* em suínos são o MAT e o ELISA. Na infecção natural esses testes apresentaram sensibilidade de 82,9% e 72,9% e especificidade de 90,9% e 85,9%, respectivamente (DUBEY et al., 1995a). Da mesma forma é recomendada a RIFI, que apresenta 95,7% de sensibilidade e 97,8% de especificidade, de acordo com dados obtidos de suínos naturalmente infectados. Por isso é uma prova que possui elevada concordância com a MAT ($\kappa = 0.86$), o ELISA ($\kappa = 0.71$) e a reação de Sabin-Feldman (SF) (96,4%) (ISHIZUKA, 1978; DAMRIYASA et al., 2004; MINHO et al., 2004).

A SF já foi considerada a prova de referência para a detecção de anticorpos tardios em suínos, mas identifica também anticorpos iniciais com eficiência superior à da HA. No entanto, é desaconselhada por envolver uso de toxoplasmas vivos e virulentos, o que a torna perigosa. Além disso, sofre influência do tamanho do camundongo inoculado e necessita do fator acessório, representado pelo soro *Toxoplasma*-negativo (ISHIZUKA, 1978).

Testes baseados em hemaglutinação foram desenvolvidos a fim de possibilitar uma triagem rápida das amostras de soro, pois são interpretados através da inspeção visual sem necessidade de equipamentos sofisticados. No entanto, os eritrócitos aviários utilizados como reagentes nesse tipo de prova podem produzir reação cruzada com grupos sanguíneos

heterólogos. A isto se atribui a baixa sensibilidade da hemaglutinação indireta (IHA) para o diagnóstico do *T. gondii* em suínos, comprovada pela pouca concordância com o ELISA ($\kappa = 0.20-0.15$) e pela grande quantidade de falsos positivos verificados na confirmação pelo Western blot (CHANG et al., 1985; SUARÉZ-ARANDA et al., 2000).

Em estudos experimentais, o MAT e o ELISA apresentaram maior sensibilidade que a aglutinação em látex (LAT) e a IHA no diagnóstico da infecção aguda e crônica por *T. gondii*, identificando anticorpos específicos desde a primeira semana até um período superior a dois anos de infecção (DUBEY et al., 1996a; DUBEY et al., 1997). Igualmente, a RIFI detectou títulos ascendentes de IgG desde o 5º até o 9º ou 11º dia pós-inoculação, quando permaneceram estáveis, decaindo após o 49º dia pós-inoculação para valores ainda acima do ponto de corte (MOURA et al., 2007).

Segundo comparação pelo bioensaio em gatos, técnica mais sensível para a confirmação da infecção por *T. gondii*, o desempenho do ELISA é igual ou superior ao da MAT para o diagnóstico em suínos. Diante disso e considerando o maior tempo de execução da MAT e a dificuldade de interpretação dos seus resultados, ela seria menos indicada para a triagem em criações e abatedouros. De qualquer forma, devido a baixa taxa de falsos negativos nas duas provas, nenhuma é apropriada para o exame individual ou de populações com prevalência extremamente baixa (GAMBLE; DUBEY; LAMBILLOTTE, 2005).

A MAT é prolongada pelo período de incubação overnight que antecede a leitura. Nesse aspecto, a RIFI mostra-se mais vantajosa por ser lida pouco tempo depois de finalizada. Além disso, nesta prova empregam-se antígenos produzidos no Brasil ou que podem ser obtidos facilmente através de cultivo celular ou pela manutenção de *T. gondii* vivo em camundongos. Por isso, no Brasil, a MAT é pouco empregada, já que utiliza antígenos importados, o que encarece seu custo em cerca de duas vezes, comparativaente à RIFI (MINHO et al., 2004).

Técnicas de diagnóstico molecular para *T. gondii* ainda estão em fase avaliação. Diferentes modalidades de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) têm sido propostas e, embora eficientes, possuem limitações para a triagem clínica devido a pouca reprodutibilidade ou a baixa especificidade, uma vez que só reconhecem como positivos os casos com parasitemia (KOMPALIC-CRISTO; BRITTO; FERNANDES, 2005). Também têm apresentado baixa sensibilidade em comparação com técnicas sorológicas tanto nas infecções experimentais quanto naturais analisadas pelo bioensaio em gatos. Assim, as sensibilidades da PCR em tempo real, da semi-nested PCR e da PCR direta foram, respectivamente, 20,51%,

12,82% e 0%, inferiores à do ELISA, que foi de 100%, e à do MAT, que foi de 80,64% (HILL et al., 2006).

A PCR é satisfatória na identificação de *T. gondii* em amostras de tecido para diagnóstico diferencial com organismos histológica e imunohistoquimicamente semelhantes, como *Neospora caninum* ou *Hammondia* sp. A amplificação e hibridização do gene B1, altamente específico para *T. gondii*, resulta no reconhecimento de 93,3% dos casos positivos, representando uma alternativa rápida e menos dispendiosa ao uso da microscopia eletrônica, do cultivo celular ou da imunohistoquímica (HYMAN et al., 1995).

De acordo com Millar et al. (2008), o primeiro relato de *T. gondii* em suínos no Brasil foi feito por Silva, em 1959, a partir do diagnóstico histológico de um caso espontâneo ocorrido no Estado de Minas Gerais.

Fernandes; Barbosa (1972) aplicaram a reação de Sabin-Feldman em soros suínos obtidos em abatedouros do Estado de Goiânia, encontrando positividade de 34,17% (27/79), sendo 14,8% (4/27) na titulação 1:16, 70,3% (19/27) na titulação 1:64 e 14,8% (4/27) na titulação 1:256. Exames histopatológicos foram realizados em cinco animais, encontrando-se pseudo-cistos de toxoplasma no miocárdio e musculatura estriada de dois deles. Fragmentos de diafragma de 20 sororreagentes foram colhidos para isolamento, obtendo-se uma cepa de elevada patogenicidade para camundongos.

D'Angelino; Ishizuka (1986) estudaram os soros de 163 suínos de um rebanho intensivo e de 185 suínos de um rebanho semi-intensivo de Pirassununga (SP), obtendo prevalência de 54,0% e 49,2%, respectivamente, pela IFI, e de 46,6% e 42,7%, respectivamente, pela HA. Na exploração intensiva, os títulos da RIFI variaram de 1:16 a 1:1000, sendo mais frequentes as diluições 1:64, dos 0 aos 4 meses de idade e 1:256, a partir dos 4 meses e o título 1:1000 tornou-se mais expressivo em animais acima dos seis meses de vida. A mesma evolução foi verificada para a exploração semi-intensiva. Na HA os títulos foram baixos na exploração intensiva até os 4 meses, aumentando em seguida, já na exploração semi-intensiva o aumento dos títulos foi menos expressivo. Aumento na porcentagem dos reagentes com o progredir da idade sugere exposição permanente à infecção.

Grüspan et al. (1995) testaram pela HAI os soros de suínos abatidos em frigorífico, em idade de terminação, provenientes de rebanhos intensivos do noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. A prevalência da infecção toxoplásmica, considerando títulos positivos a partir de 1:64, foi de 18% (36/200). Os soros foram reagentes nas titulações 1:64 (39%), 1:128 (5,5%), 1:256 (39%), 1:512 (5,5%) e 1:1024 (11%).

Suaréz-Aranda et al. (2000), identificaram 9,6% de soropositividade em 300 suínos de 5 meses abatidos em São Paulo através do ELISA, com confirmação pelo Western blot.

Silva et al. (2003) aplicaram o MAT em 115 soros de suínos (matrizes e reprodutores) criados extensivamente em 13 propriedades dos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, encontrando títulos positivos em 86,08% dos casos.

Levantamentos mais recentes apresentaram resultados variáveis, de acordo com o critério de avaliação dos resultados. Assim, 240 soros de suínos da região da Grande Porto Alegre foram positivos à RIFI na proporção de 20%, ao ponto de corte 1:64, e 33,75%, ao ponto de corte 1:16 (FIALHO; ARAÚJO, 2003).

Em suínos do Norte do Paraná, a mesma técnica encontrou 15,35% de positividade em 521 amostras de soro, sendo que, 14,4% delas foram reagentes na titulação 1:16, 13,14% na titulação 1:64, 1,92% na titulação 1:256 e 0,19% na titulação 1:4096 (TSUITSUI et al., 2003).

O primeiro isolamento de *T. gondii* em suínos no Brasil foi realizado por Dos Santos et al. (2005). Inicialmente, soros de animais de terminação abatidos no Estado de São Paulo foram analisado através do MAT, apresentando 17% de positividade (49/286). O isolamento em camundongo foi tentado a partir do coração, cérebro e língua de 28 soropositivos. Sete isolados foram obtidos, todos letais. A amplificação de fragmentos de DNA pela PCR revelou que dois isolados pertenciam ao tipo I e cinco ao tipo III.

Carletti et al. (2005) investigaram os soros de suínos abatidos em 8 mesorregiões do Estado do Paraná, identificado, através da RIFI, 20,9% (6/29) de matrizes e 2,60% (11/395) de leitões de terminação sororreagentes.

Soros de 38 suínos criados no Município de Barra Mansa (RJ) apresentaram 65,8% de positividade à RIFI, com frequência de 23,7% na titulação 1:16 e na titulação 1:64, 5,3% na titulação 1:256 e 13,2% na titulação 1:1024 (BONNA et al., 2006). No Estado do Pará, Freitas et al. (2009) observaram soropositividade em 50% do suínos abatidos clandestinamente no Município de Belém. Na Bahia, Bezerra et al. (2010) encontraram 18,27% de suínos positivos ao ELISA, com maior frequência nos procedentes de criações rústicas (21,91%) do que nos procedentes de granja (14,82%). No Estado da Paraíba, foi encontrada a prevalência de 36,2%, pela RIFI, em 130 soros de suínos abatidos na cidade de Patos, adotando-se como ponto de corte a titulação 1:50 (AZEVEDO et al., 2010).

Em granjas tecnificadas do Estado de Alagoas, Valença et al. (2011) registraram 26,9% de sororreagentes à RIFI, entre matrizes e reprodutores de granjas tecnificadas, com variação de 0% a 47,9% entre as granjas, sendo os maiores valores observados naquela onde

ocorria presença de gatos, uso de sêmen refrigerado e introdução de varrões nos últimos 5 anos.

Cavalcanti (2001) examinou os soros de suínos de abate Estado de Pernambuco, encontrando soroprevalência de 12,46% (38/305), com variação de 2,63% a 28,95% entre os 9 municípios estudados.

Nota-se, a partir dos autores anteriormente citados, variações na soroprevalência entre diferentes localidades do Brasil. Segundo Dubey; Jones (2008), variações geográficas na soroprevalência resultam das características de manejo e de biossegurança mantidas em cada criação, observando que, nos Estados Unidos, granjas que adotaram o sistema intensivo e a prevenção contra a presença de gatos e roedores tiveram queda na taxa de infecção para o *T. gondii*, de 42% para 20,8% em reprodutores e de 20,8% para 3,1% em leitões de terminação em um período de 10 anos e, por outro lado, criações com manejo deficiente e sistema extensivo o percentual de sororreagentes chegava a 68%.

Vidotto et al. (1990) associaram a alta prevalência de infecção por *T. gondii* em suínos do Estado Paraná aos gatos presentes em todas as propriedades estudadas, bem como à presença de roedores nestes locais, se abrigando sob os comedouros, ao alcance dos suínos.

Dubey et al. (1995b) e Kijlstra et al. (2004) afirmam que os roedores são importante fonte de infecção direta para os suínos e também contribuem para manter a infecção na população de gatos. Da mesma forma, García-Bocanegra et al. (2010b), informam que nas criações sem programa de controle de roedores se encontram as maiores prevalências para *T. gondii*.

Criação em sistema extensivo também favorece a infecção por aumentar a exposição ao solo, que pode ser um reservatório de oocistos do toxoplasma, e facilitar o contato com uma variedade de mamíferos portadores da infecção, como roedores, marsupiais, guaxinins, entre outros (WEIGEL et al., 1997). Entretanto, Damriyasa et al. (2004) não verificaram associação entre uso de sistema intensivo e presença de gatos com a taxa de infecção por *T. gondii*.

Albuquerque et al. (2011) constataram que a presença de outros hospedeiros intermediários, como a galinha, contribui para diminuir a contaminação do solo pelos oocistos infectantes do *T. gondii*.

3.2 *Neospora caninum*

Neospora caninum é um parasito morfologicamente semelhante ao *T. gondii*, porém difere deste pelas características de ultra-estrutura, imunogenicidade e patogenicidade. Foi identificado pela primeira vez em 1988 a partir de cães neonatos com sintomatologia nervosa e muscular semelhante à toxoplasmose, forma merontes em vários tecidos, especialmente no cérebro e medula espinhal (DUBEY et al., 1988a).

Cães e coiotes são hospedeiros definitivos do protozoário. No cão, a eliminação de oocistos nas fezes ocorre 3 a 5 dias após a infecção, se prolongando por aproximadamente uma semana (LINDSAY; DUBEY; DUNCAM, 1999; GONDIM et al., 2004). Oocistos infectantes permanecem viáveis no ambiente por vários dias, podendo transmitir a infecção, por via oral, para hospedeiros definitivos e intermediários (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Em hospedeiros intermediários, o parasito forma cistos teciduais, que são infectantes para hospedeiros definitivos. A carne bovina, em particular, constitui eficiente veículo de transmissão horizontal do *N. caninum* para cães (GONDIM; GAO; MCALLISTER, 2002), contribuindo para a manutenção da infecção canina no meio rural, onde é regularmente consumida crua por estes animais (DA SILVA, 2010).

Entre os hospedeiros intermediários destacam-se os bovinos, nos quais a transmissão placentária do *N. caninum* é altamente eficiente, produzindo grande quantidade de abortos e infecção congênita. Ocorrências clínicas são pouco comuns em pequenos ruminantes e desconhecidas em búfalos, cavalos e espécies silvestres (DUBEY, 2003).

Suíños infectados experimentalmente com oocistos de *N. caninum* apresentaram lesões necrotizantes e inflamatórias multifocais em órgãos fetais e trofoblastos (JENSEN, 1998). Nessa espécie, a infecção natural por *N. caninum* é esporádica, inviabilizando estudos de correlação com distúrbios reprodutivos (HELMICK et al., 2002). Em uma população com grande número de matrizes suínas sororragentes, foi verificado atraso no início do serviço e na idade ao primeiro parto em fêmeas infectadas, enquanto que as livres de infecção apresentaram maiores médias anuais parições e prolificidade maiores e menor ocorrência de natimortalidade (KAMGA-WALADJO et al., 2009).

Exames sorológicos são os meios mais utilizados para avaliar a exposição ao agente (Tabela 1). Contudo, a confirmação da infecção só é possível através de ferramentas de diagnóstico parasitológico, como exame histopatológico, imuno-histoquímico, PCR e

isolamento dos parasitos mediante inoculação do material suspeito em cultivo celular ou em animais de laboratório (ANDREOTTI et al., 2003).

Tabela 1 - Exames sorológicos utilizados no diagnóstico da infecção por *Neospora caninum*.

Métodos	Antígenos
RIFI	Taquizoítos
Imunoblot	Extrato solúvel
ELISA cinético	Sonicado
ELISA	Extrato solúvel
ELISA	Extrato iscom
CI-ELISA	P65
r-ELISA	NCDGI-2, N54
IFAT-ELISA	Taquizoítos
MAT	Taquizoítos

RIFI = reação de imunofluorescência indireta, ELISA = ensaio imunoenzimático, CI-ELISA = ELISA de competição e inibição; r-ELISA = ELISA recombinante; Iscom = complexo imunoestimulantes; IFAT = indirect fluorescent antibody test; MAT = teste de aglutinação modificada. FONTE: Andreotti et al. (2003).

As técnicas sorológicas mais difundidas para diagnóstico da infecção por *N. caninum* são a RIFI e o ELISA. Ambas identificam níveis moderados a elevados de anticorpos, apresentando limitações quanto aos títulos são baixos das infecções subclínicas e das soroconversões recentes. A RIFI é mais tradicional, sendo aplicada para o diagnóstico da neoporose canina e bovina desde 1988 e utilizada como padrão para comparação com outros testes (ATKINSON et al., 2000).

Na leitura da RIFI, dois padrões de fluorescência são descritos: não-apical, se apenas a periferia do taquizóito fluoresce (Fig. 1A), e apical, se o ápice fluoresce, independente da fluorescência periférica ocorrer (Fig. 1B, 1C).

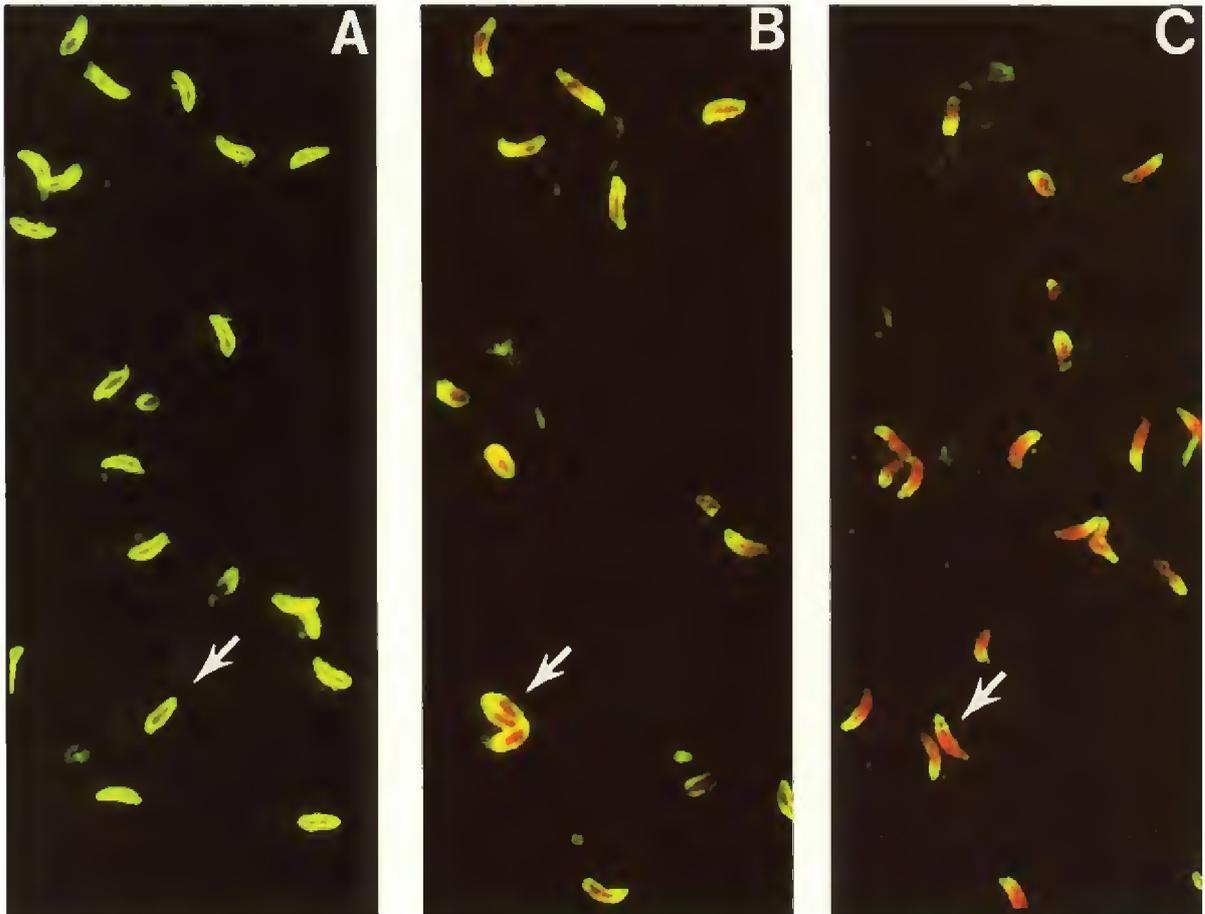


Figura 1 - RIFI de *Neospora* sp. em vaca. **A.** Título positivo com taquizoíto apresentando fluorescência não-apical (seta). **B.** Título positivo com taquizoíto apresentando fluorescência apical, inespecífica (seta). **C.** Título negativo com taquizoíto apresentando fluorescência apical, inespecífica (seta). FONTE: Paré; Hietala; Thurmond (1995).

Essa classificação é fundamentada no potencial para reações cruzadas entre *Neospora* sp. e outros Apicomplexa (*Eimeria* sp., *Cryptosporidia* sp., *Sarcocystis* sp. e *T. gondii*), a qual dificulta a diferenciação entre animais verdadeiros positivos e verdadeiros negativos, impossibilitando a determinação de um ponto de corte apropriado. Assim, dependendo da sensibilidade e da especificidade desejadas, pode-se adotar um ponto de corte mais liberal ou mais conservador (PARÉ; HIETALA; THURMOND, 1995).

Em bovinos adultos, por exemplo, estes dois extremos são representados pelos títulos 1:160 e 1:640, respectivamente, considerados indicativos de infecção. Valores maiores sugerem infecção recente e valores menores, como 1:25, indicam que houve exposição ao parasito. Em fetos bovinos o ponto de corte pode ser reduzido para 1:16 a fim de aumentar a chance de resultados positivos (ANDREOTTI et al., 2003).

Apesar disso, o uso da RIFI na infecção mista de bovinos por *N. caninum*, *T. gondii* e *Sarcocystis* sp. e de coelhos por *N. caninum*, *T. gondii*, *Hammondia hammondi* e *Sarcocystis* sp. resultou em pouca ou nenhuma reação cruzada, assegurando que a prova é específica para o diagnóstico da infecção por *N. caninum*. Neste aspecto, é superior ao ELISA, que apresenta reação cruzada com *Sarcocystis* sp. (DUBEY et al., 1996b).

Reação cruzada com *T. gondii* também foi relatada em algumas modalidades de ELISA, no entanto, essa prova é vantajosa para o monitoramento em larga escala de rebanhos devido ao menor tempo de execução. No ELISA solúvel, no ISCOM-ELISA, no r-ELISA e no IFAT-ELISA são considerados positivos os valores de absorbância acima do ponto de corte determinado em soro de referência, geralmente caracterizado pela RIFI (ATKINSON et al., 2000).

Ampla variedade de antígenos foram descritos para *N. Caninum*, destacando-se como alvos principais e testes sorológicos os antígenos imunodominantes (AIDs) de taquizoítos, p37 e p29/30, que compreendem um grupo de moléculas com peso molecular de 37 kDa e 29/30 kDa, respectivamente, geneticamente similares aos genes para SAG1 (antígeno de superfície 1) e SRS-2 (sequência 2 relacionada ao antígeno de superfície 1) (ATKINSON et al., 2000).

O uso de AIDs recombinantes no ELISA elimina a possibilidade de reação cruzada com *T. gondii* e apresenta desempenho melhor que dos antígenos totais de taquizoítos. A resposta imune aos AIDs é bastante precoce e envolve imunoglobulinas das classes IgA, IgM e IgG, motivo pelo qual o r-ELISA é uma excelente alternativa para a detecção da infecção aguda durante surtos de neosporose. No entanto, a grande amplitude dos valores considerados positivos nesta e em outras formas de ELISA resulta em sobreposição ou tangenciamento com os valores considerados negativos, dificultando a distinção entre soropositivos e soronegativos (HOWE et al., 2002).

Em suínos, ELISA e RIFI apresentaram discrepâncias no sorodiagnóstico do *N. caninum*, no qual das 40 amostras sororreagentes ao ensaio enzimático nenhuma foi positiva na RIFI (HELMICK et al., 2002). Possivelmente isto esteja relacionado com a ocorrência de reações cruzadas, uma vez que a co-infecção por *N. caninum*, *T. gondii* e *Sarcocystis* sp. pode ser encontrada dentro do mesmo rebanho ou em um mesmo animal. Por isso alguns estudos têm buscado a confirmação dos resultados positivos através de Imunoblot (IB) (DAMRIYASA et al., 2004; AZEVEDO et al., 2010).

IB é um teste pouco usado em levantamentos epidemiológicos de rebanhos, sendo mais empregado para complementar outros testes devido raramente produzir reação cruzada

com *T. gondii* (ATKINSON et al., 2000). Isto se deve ao baixo percentual de semelhança genética entre as proteínas SAG1 e SRS-2 de *N. caninum* e *T. gondii*, que são os principais antígenos identificados pela prova, e cujo grau de homologia entre essas duas espécies é insuficiente para incitar reação cruzada mesmo em soros pouco reativos e com baixos títulos (MINEO, 2001).

Infecção natural por *N. caninum* em suínos foi registrada pela primeira vez por Helmick et al. (2002), através do ELISA, que encontraram títulos em 8,8% (40/545) dos soros de matrizes com histórico de aborto e infertilidade na Grã-Bretanha, concluindo que a exposição ambiental ao agente raramente ocorre em suínos.

Damriyasa et al. (2004) foram os primeiros a confirmar a infecção natural em suínos através do immunoblotting de um caso positivo ao ELISA. Nesse estudo a sorologia revelou frequência de 3,3% (67/2041) de infecção em matrizes suínas da Alemanha. Das 117 propriedades estudadas, 27,7% possuíam sororreagentes e em uma delas a soroprevalência atingiu 60%, ainda assim os autores concluíram que a infecção por *N. caninum* ocorre muito esporadicamente em suínos, desempenhando papel irrelevante na epidemiologia desse protozoário.

Kamga-Waladjo et al. (2009), pesquisando a infecção em matrizes suínas errantes do Senegal, através do ELISA Multi-species, encontraram soropositividade de 58,3% (35/60) e atribuíram este alto valor ao modo de criação extensivo, no qual os animais perambulam em busca de alimentos e água, mantendo contato com formas parasíticas do protozoário. A frequência foi maior nas fêmeas com idade inferior a 10 meses (42,0%) e entre 10 e 24 meses (37,1%) e menor naquelas acima dos 24 meses (20%).

Bártova; Sedlák; Literák (2006) utilizaram o ELISA de inibição para investigar a infecção em javalis selvagens (*Sus scrofa*) de diferentes regiões da República Tcheca, verificando a sua presença em 18,1% (102/565) dos soros analisados, com variação regional de 0% a 31,8%. A RIFI foi utilizada para refinar os resultados positivos, dos quais 56% (58/102) reagiram à prova com títulos 1:40 a 1:160, indicando que é comum a exposição de javalis selvagens da república Tcheca ao *N. caninum*.

Ainda na República Tcheca, Bártova; Sedlák (2011) pesquisaram através do ELISA de inibição soros de suínos de abate de 8 distritos locais, todas fêmeas entre 6 a 8 meses de idade. Anticorpos contra *N. caninum* foram identificados em 3% (16/551) dos animais e a infecção encontrada em 50% dos distritos estudados, com prevalência variando de 1% a 20%, sendo considerada esporádica no país.

No Brasil, Almeida (2004) relata que no Estado da Bahia a infecção pelo *N. caninum* foi identificada pela RIFI em 7,5% dos suínos criados extensivamente e em 0% dos criados intensivamente, ao ponto de corte 1:40. No entanto, o Western Immunoblotting não confirmou os casos positivos. Entretanto, Azevedo et al. (2010) encontraram 3,1% de sororreagentes entre suínos criados intensivamente no Estado da Paraíba, confirmando os casos positivos através de immunoblotting.

Assim, medidas de controle da infecção pelo *N. caninum* estão voltadas para a diminuição de oocistos no ambiente através da redução da população canina e limitação do seu acesso às fontes de água e alimentos dos hospedeiros intermediários, a carcaças de fetos abortados ou a animais mortos (GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006).

Procedimentos de higiene e de biossegurança também devem ser adotados a fim de evitar a introdução do agente através de pessoas, água, alimentos, equipamentos e outros animais que tiveram contato com as fontes de contaminação existentes fora das unidades de produção (DIAS, 2011). Complementarmente, desinfecção dos ambientes com calor a 100° C por 1 minuto ou com hipoclorito de sódio a 10% por uma hora é eficiente na eliminação dos oocistos do *N. caninum* (ALVES NETO, 2009).

Não-observação dessas medidas é frequente nas pequenas criações que adotam mão-de-obra familiar, o que está relacionado à maior ocorrência da infecção por *N. caninum* nessas unidades (ALMEIDA, 2004).

3.3 *Brucella abortus*

O gênero *Brucella* é contitupido por cocobacilos imóveis, aeróbios e capnófilos, medindo 06 x 0,6 a 1,5µm, que se coram pela técnica de Ziehl-Nielsen modificada (QUINN et al., 1993). São intracelulares facultativos, não formadores de esporos e não encapsulados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010). Das nove espécies já identificadas, duas são exclusivas de mamíferos aquáticos e sete acometem animais terrestres, tendo como hospedeiros preferenciais bovinos (*B. abortus*), ovinos (*B. ovis*), caprinos (*B. mellitensis*), suínos (*B. suis*), caninos (*B. canis*) e roedores (*B. neotomae* e *B. microti*) (GODFROID, 2002; SELLEM; BOYLE; SRIRANGANATHAN, 2010).

A identificação de microrganismos brucélicos ocorreu no século XIX, por David Bruce, em cortes seriados do baço de um militar vitimado pela "febre de Malta" ou "do Mediterrâneo", como era então conhecida a brucelose, endêmica nestas regiões. Anos mais

tarde, Themistocles Zammit elucidou que a transmissão para humanos se dava a partir do leite de cabras infectadas que não apresentavam sintomatologia clínica (WYATT, 2009).

Brucelas são agentes zoonóticos de grande importância ocupacional, listados entre os de maior gravidade para os envolvidos na atividade agropecuária. Veterinários, operários de frigoríficos e funcionários de granjas podem se infectar durante o auxílio ao parto de animais doentes, lidando com fetos abortados ou manipulando carne de animais infectados (MATOS et al., 2004). *B. mellitensis*, *B. suis* e *B. abortus* são mais patogênicas para o ser-humano e caracterizam microbiologicamente pela formação de colônias primárias com morfologia lisa, por isso, são denominadas brucelas lisas, diferindo das espécies menos patogênicas (*B. canis*, *B. Ovis*, *B. neotomae* e *B. Microti*), cujas colônias primárias apresentam morfologia rugosa (BRASIL, 2006).

A brucelose suína foi descrita no início do século XX relacionada a abortamentos provocados tanto por *B. abortus* quanto por uma nova espécie deste gênero, nomeada *B. suis*, a qual é atualmente composta por cinco sorovares (BOAK; CARPENTER, 1930; Paulin; FERREIRA NETO, 2008).

Infecção brucélica em suínos ocorre em regiões suinícolas ao redor do mundo, sendo mais comum na América do Sul e Sudeste Asiático, quase sempre com baixa prevalência e tem como principal agente causador *B. suis* sorovares 1, 2 e 3, embora, como já dito, também possa ser ocasionada por *B. abortus* (OLSEN, 2012; POESTER, 2013). Essas duas espécies são de grande importância para a saúde pública no Brasil, onde *B. melitensis* não é encontrada (BRASIL, 2006).

A transmissão ocorre de forma direta através de secreções, sêmen e descarga uterina de animais portadores, além de tecidos infectados de produtos do nascimento ou de aborto e também alimentos contaminados (OLSEN, 2012). As vias de entrada das brucelas são as mucosas do trato digestório, genital e nasal e as soluções de continuidade da pele, de onde migram para linfonodos, permanecendo quiescente por vários meses no interior dos macrófagos. Na ocasião da bacteremia, ocorre colonização do fígado, baço, linfonodos, tecidos osteoarticulares e mamários e órgãos reprodutores masculino e feminino (PAULIN; FERREIRA NETO, 2008).

A persistência da infecção se deve à habilidade da brucela em se replicar no interior de células do sistema monocítico fagocitário e em células não-fagocitárias, como trofoblastos, onde sobrevive por longo período no interior de compartimentos associados ao retículo endoplasmático das célula hospedeira (XAVIER et al., 2010).

Características trópicas desta bactéria, associadas ao longo período de latência da infecção, condicionam aos suínos sexualmente maduros a ocorrência de manifestações clínicas (GUL; KAHN, 2007), observando-se, nas matrizes, aborto, geralmente no início da gestação e, no cachaço, lesões hiperplásicas e abscedativas no trato reprodutivo, muitas vezes unilaterais, que progridem para esclerose e atrofia, prejudicando a atividade sexual. Animais de ambos os sexos podem desenvolver poliartrite, espondilite e paralisia posterior. Remissão parcial dos sintomas pode ocorrer antes dos seis meses de infecção, persistindo infertilidade nas fêmeas e contaminação do sêmen nos machos (OLSEN, 2012).

O diagnóstico clínico de brucelose deve ser apoiado por exames laboratoriais para a confirmação da infecção, obtendo-se maior precisão através do cultivo bacteriano a partir de tecidos ou secreções fetais, placentas, descargas uterinas e vaginais, leite ou sêmen. Este procedimento, no entanto, envolve alto risco de contaminação para o laboratorista, é demorado e demandar meios seletivos especiais para inibir a microbiota contaminante do ambiente (LAGE et al., 2008).

Assim, a detecção de anticorpos específicos no soro ou no leite é a forma mais viável para o diagnóstico da infecção brucélica em grande escala, ocorrendo, nos soros de suínos, reações cruzadas com aglutininas inespecíficas ou com anticorpos contra *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* O9 e outros organismos. Dessa forma, o melhor custo-benefício é obtido pela triagem das amostras com um teste rápido, barato e de alta sensibilidade seguido por testes confirmatórios, mais específicos, naquelas que reagem positivaente (CORBEL, 2006).

Lipopolissacarídeos de parede celular são antígenos utilizados na imunodifusão em gel, ELISA, hemólise indireta e Western Blot. Células inteiras são usadas nos testes de soroaglutinação (SAL, AAT, coombs), FC e IFI (BRASIL, 2006).

Em suínos, a SAL (Soro Aglutinação Lenta em Tubos), cuja sensibilidade e especificidade são baixas, não é recomendado. A soroaglutinação pelo AAT (Antígeno Acidificado Tamponado), também conhecido como Rosa Bengala, é útil para triagem de grande quantidade de soros e resultados similares podem ser obtidos pela FC, mas o ELISA oferece a maior sensibilidade e especificidade dentre os testes sorológicos (CORBEL, 2006).

Assim, para reduzir a quantidade de falso-positivos, as amostras positivas na triagem pelo AAT podem ser confirmadas através do ELISA ou da FC. Isto não exclui completamente as reações cruzadas, devendo-se assumir, portanto, que a taxa de soropositividade fornece apenas uma estimativa da taxa de prevalência (CVETNIC et al., 2009).

No Brasil, a triagem com antígenos de *B. abortus* através do AAT é recomendada para monitoramento de reprodutores suínos em granjas certificadas (BRASIL, 2009a) e tem sido o método de eleição nos estudos sorológicos envolvendo a espécie suína, recorrendo-se, eventualmente, à confirmação pela FC ou pela prova do 2-ME (2-mercaptoetanol).

Análise de soros de 829 matrizes suínas criadas em 22 municípios da região de Goiânia (GO) resultou em apenas um (0,12%) soro positivo para a prova do Rosa Bengala, indicando que, apesar das condições inadequadas de manejo e higiene nas propriedades estudadas, a brucelose suína não constitui problema sanitário naquela região (MATOS et al., 2004). Similarmente, inquérito realizado em 104 soros de suínos criados em pequenas propriedades familiares do Município de Montenegro (RO) revelou apenas uma (0,9%) amostra positiva ao teste do AAT (AGUIAR et al., 2006).

Lima et al. (2010) avaliaram 120 amostras de soro de fêmeas suínas com problemas reprodutivos e 201 amostras de tecido de fetos abortados dos Estados do Paraná e Santa Catarina, onde a suinocultura apresenta melhores condições tecnológicas que na maior parte do país, em nenhuma foi observada positividade aos testes do AAT, do SAL e do 2-ME.

Dos soros de 306 suínos abatidos no Estado da Paraíba, apenas cinco (0,98%) foram positivos ao teste do AAT, e somente três destes tiveram a infecção confirmada pela prova do 2-ME (AZEVEDO et al., 2012).

Amostras de soro de 910 suínos de abate, provenientes de 14 municípios do Estado do Estado de São Paulo, apresentaram 3% de positividade ao AAT, totalizando 25 amostras positivas, das quais foram não reagiram negativamente aos testes confirmatórios (SAL e 2-ME) (ROSA; GARCIA; MEGID, 2012).

Estes dados confirmam que o Brasil é uma área endêmica da infecção brucélica suína, cuja prevalência é geralmente baixa, exceto em casos de surto, como ocorreu na cidade paulista de Jaboticabal, acometendo 27,4% dos leitões de uma granja de terminação (MEIRELLES-BARTOLLI, 2010).

No entanto, em abatedouros clandestinos do Estado do Pará, a frequência de suínos reagentes ao AAT foi notavelmente alta (42,2%), gerando preocupação quanto ao risco zoonótico para os indivíduos envolvidos nesta prática (FREITAS et al., 2001). A proximidade deste percentual com o observado em suídeos silvestres de vida livre (48,8%) (STOFFREGEN et al., 2007) aparentemente relaciona-se com as condições de manejo dos suínos criados no Estado, uma vez que em pequenas propriedades a infecção é favorecida pelos sistemas de criação extensivo ou semi-extensivo, enquanto nas criações tecnificadas é

geralmente determinada pela introdução de reprodutores infectados, resultando em reduzida taxa de infecção (ŠPIČIĆ et al., 2010).

Como medidas preventivas de infecção brucélica em suínos, Corbel (2006) recomenda selecionar criteriosamente os animais para reposição, submetê-los a quarentena mínima de 30 dias, impedir o contato com rebanhos infectados ou cujo status é sanitário desconhecido, examinar laboratorialmente casos suspeitos, participar de programas de monitoramento, abater animais sororreagentes, enterrar ou queimar fontes biológicas de infecção, desinfetar ambientes contaminados e cooperar para a investigação de casos em humanos.

Tais medidas têm importância acentuada pela inexistência de vacina contra *B. suis* e pela ineficácia da imunização de suínos com a vacina contra *B. abortus* (OLSEN, 2012).

No Brasil, o controle oficial da brucelose suína é estabelecido pela Instrução Normativa SDA nº19, de 15 de fevereiro de 2002, da Secretaria de Defesa Agropecuária/MAPA, que normatiza a certificação de granjas de reprodutores suídeos. Exames sorológicos de triagem e complementares são exigidos a cada seis meses, devendo-se eliminar do plantel os sororreagentes (BRASIL, 2009).

3.4 *Leptospira* sp.

Bactérias do gênero *Leptospira* estão incluídas na família Leptospiraceae, ordem Spirochaetales, caracterizando-se morfológicamente como bastonetes, medindo 6-20 µm de comprimento por de 0.1 µm de largura, sendo ativamente móveis e apresentando formato helicoidal, com uma ou ambas as extremidades em forma de gancho (VIJAYACHARI, 2007).

O isolamento deste agente ocorreu em 1915, em trabalhadores de esgoto do Japão, sendo inicialmente denominado *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* e, mais tarde, *Leptospira icterohaemorrhagiae* em função do seu formato espiralado e da sua sintomatologia clínica, caracterizada por febre aguda acompanhada de icterícia e manifestações hemorrágicas (LUCHEIS; FERREIRA JUNIOR, 2011).

Na América Latina, o primeiro relato ocorreu no Brasil, em 1911, a partir de um surto epidêmico ocorrido no Estado do Pará. Em meados do século XX, uma elevada ocorrência de *L. icterohaemorrhagiae* foi encontrada em ratos de diversas capitais do país e outras variedades sorológicas foram identificadas em cães, equinos, bovinos e suínos (ALEXANDER, 1960; OLIVEIRA; LIMA, 1996).

Variedades sorológicas, ou sorovares, foram adotadas como elementos de classificação dentro do gênero *Leptospira* sp. em função das dificuldades impostas pelo

cultivo bacteriológico deste agente, levando à adoção de outros critérios para a elaboração da sua taxonomia, dentre eles a habilidade de infectar mamíferos, resistência a determinados bacteriostáticos e diferenças sorológicas. A partir desses parâmetros, o gênero foi dividido em duas espécies: *L. interrogans*, que engloba todos os sorovares patogênicos, e *L. biflexa*, constituído somente por sorovares não-patogênicos ou saprófitas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1965).

Sorovares são determinados pela aglutinação cruzada com anti-soro produzido em coelhos, portanto, representam linhagens sorologicamente heterogêneas de cada espécie de *Leptospira* sp. e formam a unidade taxonômica básica do gênero. São, ainda, com base em diferenças antigênicas, agrupados em um táxon maior, denominado sorogrupo. Desse modo, a espécie *L. interrogans* é atualmente composta por cerca de 250 sorovares agrupados em pouco mais de 25 diferentes sorogrupos (VIJAYACHARI, 2007) (Tabela 2).

Tabela 2 - Sorogrupos e alguns soroves de *L. interrogans*

Sorogrupo	Sorovar(es)
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, copenhageni, lai, zimbabwe
Hebdomadis	Hebdomadis, jules, kremastos
Autumnalis	Autumnalis, fortbragg, bim, weerasinghe
Pyrogenes	Pyrogenes
Bataviae	Bataviae
Grippotyphosa	Grippotyphosa, canalzonae, ratnapura
Canicola	Canicola
Australis	Australis, bratislava, lora
Pomona	Pomona
Javanica	Javanica
Sejroe	Sejroe, saxkoebing, hardjo
Panama	Panama, mangus
Cynopteri	Cynopteri
Djasiman	Djasiman
Sarmin	Sarmin
Mini	Mini, georgia
Tarassovi	Tarassovi
Ballum	Ballum, aroborea
Celledoni	Celledoni
Louisiana	Louisiana, lanka
Ranarum	Ranarum
Manhao	Manhao
Shermani	Shermani
Hurstbridge	Hurstbridge
Holland	Holland
Leptonema	Illini

Fonte: Levett (2001); Brenner et al., (1999)

A diversidade de sorovares das leptospiros resulta da ampla variedade estrutural dos lipopolissacarídeos de superfície, principais antígenos incitadores da resposta imune humoral (BULACH et al., 2000). Sendo assim, a identificação dos sorovares constitui uma forma de classificação fenotípica, a qual é de grande praticidade na microbiologia clínica e nas investigações epidemiológicas (LEVETT, 2001).

Segundo estudos sobre hibridização de DNA, leptospiros sorológica e/ou patogênicamente relacionadas podem diferir geneticamente, permitindo que sejam classificadas com base na homologia genética entre os sorovares, resultando daí uma a classificação do gênero em grupos geneticamente relacionados, denominados espécies genômicas ou genomoespécies (BRENDEL; ROGUL; ALEXANDER, 1974; YASUDA et al., 1989; BRENNER et al., 1999; VIJAYACHARI, 2007) (Tabela 3)

Tabela 3 - Espécies genômicas de leptospiros e sorogrupos relacionados

Genomoespécies	Sorogrupo
L. interrogans	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin
L. noguchii	Panama, Autumnalis, Pyrogenes, louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona
L. santarosai	Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri
L. meyeri	Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica
L. wolbachii	Codice
L. biflexa	Seamaranga, Andamana
L. fainei	Hurtsbridge
L. borgpetersenii	Javanica, Ballum, Hebdomadis, Sejroe, Tarassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis
L. kirschneri	Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bataviae
L. weilii	Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Hebdomadis, Pyrogenes, Manhao, Sejroe
L. inadaia	Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica
L. parva	Turneria
L. alexanderi	Manhao, Hebdomadis, Javanica, Mini
Genomo espécie 1	-
Genomo espécie 3	-
Genomo espécie 4	-
Genomo espécie 5	-

Fonte: Levett (2001); Vijayachari, (2007)

No mundo todo, a infecção pela *Leptospira* spp. é considerada um problema de saúde pública, principalmente nos meios rurais e nas periferias urbanas, que oferecem condições favoráveis à disseminação do agente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010). Particularmente nos trópicos, onde as condições de temperatura e umidade costumam ser praticamente uniformes, a incidência da infecção é bastante estável, ocorrendo na Amazônia um incremento sazonal durante o período de maior pluviosidade, quando são frequentes as inundações provocadas pelos rios da região (Fig. 2) (BRASIL, 1986).

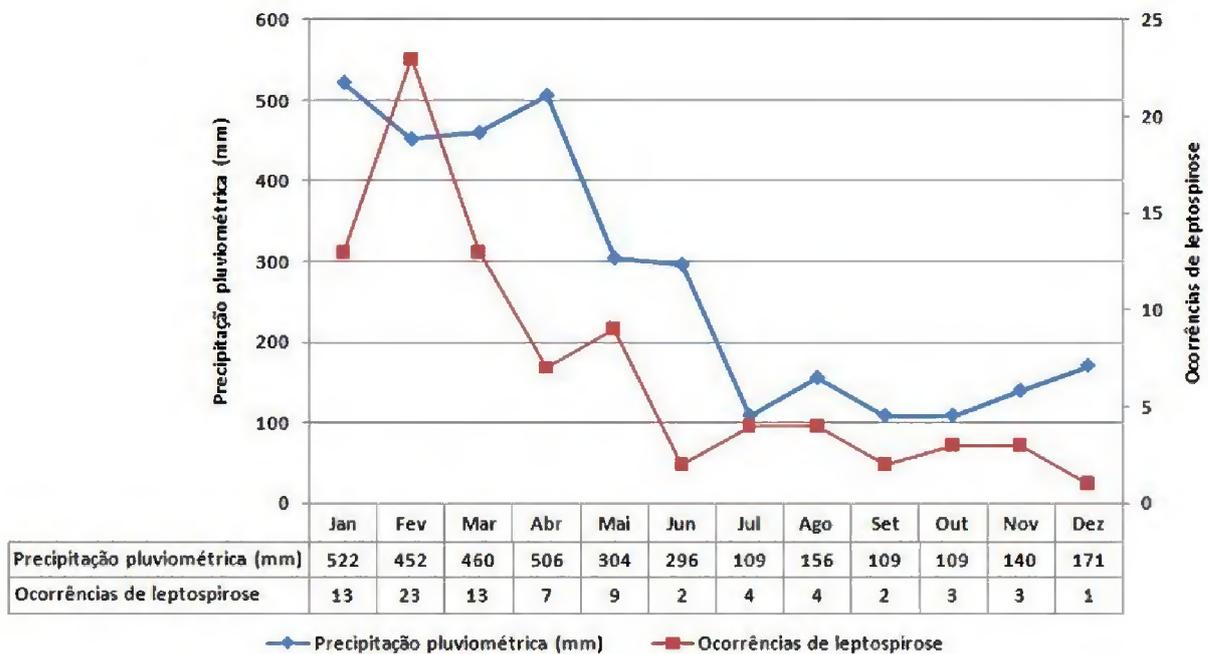


Figura 2 - Relação entre pluviosidade mensal e ocorrência de leptospirose no Município de Belém no ano de 2008. Fonte: Lima (2009).

Na zona rural, as características do habitat e a presença de animais silvestres assumem grande importância na transmissão da leptospirose às criações de animais, o que, por sua vez, acarreta impacto sobre a saúde humana, já que o principal grupo de risco ocupacional no mundo é o que lida com rebanhos bovinos leiteiros e granjas produtoras de suínos, acometendo principalmente veterinários, granjeiros e magarefes (GENOVEZ, 2009).

Em suínos, a infecção por *Leptospira* spp. é causa de problemas reprodutivos que contribuem para elevar a taxa de remoção de matrizes, acarretando considerável prejuízo econômico às criações (VARGAS et al., 2007). Nas fêmeas infectadas pode-se observar aumento do tempo de serviço e do número de prematuros e diminuição no número de nascimentos, no número de nascidos vivos, no número de leitões desmamados e baixo peso ao

nascer, sendo a ocorrência de abortos condicionada às infecções recentes ou com baixa imunidade (AZEVEDO et al., 2008).

Ratos marrons (*Rattus norvegicus*) são os principais carreadores de leptospiros e, tão logo se infectem, desenvolvem o estado crônico, quando as bactérias se alojam nos túbulos contorcidos proximais do rim, sendo eliminadas através da urina, caracterizando a leptospirúria, fenômeno cuja duração é mais prolongada (mínimo de 220 dias) quando o agente infectante é o sorovar *Icterohaemorrhagiae* (THIERMAN, 1981).

Outros sorovares frequentemente carreados por roedores sinatropicos de diferentes espécies são o *Copenhageni* e o *Castellonis* (AGUIAR et al., 2006; CAVALCANTI, 2011). No Brasil, roedores silvestres do gênero *Nectomys* sp., em razão dos seus hábitos aquáticos, são importantes veiculadores de agentes infecciosos cujo ciclo epidemiológico depende da água (GENTILE; COSTA NETO; D'ANDREA, 2010), incluindo leptospiros, sendo este roedor o reservatório natural do sorovar *Australis* (CORDEIRO; SULZER; RAMOS, 1981).

Nos meios rurais, reservatórios silvestres podem assumir importante papel na epidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em animais domésticos e camponeses pela proximidade das moradias e criações com fragmentos de floresta frequentemente visitados por espécies silvestres portadoras de leptospiros (FERNANDES, 2003; OLIVEIRA; ARSKY; CALDAS, 2013), cuja aproximação se faz maior na medida em que as atividades humanas interferem com os fluxos ecológicos ali estabelecidos (SANTOS, 2009).

Suínos adquirem a infecção pelo contato da pele ou mucosas com urina de rato ou ambiente e alimentos contaminados e, ainda, com urina, fetos abortados e descargas uterinas de animais portadores. Após um período de incubação de 2 a 5 dias as bactérias migram para o fígado, rim e baço, podendo também atingir as meninges, via disseminação hematogênica (CARDOSO, 2009).

Nesse momento, elementos imunogênicos (polissacarídeos e lipopolissacarídeos) presentes na superfície das leptospiros, induzem a produção de anticorpos que promovem a destruição das leptospiros via complemento ou opsonização para fagocitose por macrófagos e granulócitos (JOST; ADLER; FAINE, 1989).

Manifestações clínicas agudas em suínos envolvem febre, anorexia, icterícia, hemoglobinúria, sintomas nervosos e alta mortalidade, sendo mais severas em animais jovens e naqueles infectados pelo sorovar *Icterohaemorrhagiae* (SOTO et al., 2007).

Passada a infecção aguda, as leptospiros persistem em sítios imunologicamente protegidos, como os túbulos renais proximais, câmara anterior do olho e trato genital e os indivíduos infectados tornam-se portadores renais ou genitais, atuando como fonte de

infecção para animais susceptíveis (GENOVEZ, 2009). A replicação das leptospiras nos túbulos renais resulta em leptospirose, mais intensa aos 30 a 60 dias após a infecção e com duração aproximada de até dois anos (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004).

No útero a multiplicação das leptospiras pode acometer tecidos fetais provocando morte dos conceptos e consequente reabsorção, abortamento ou natimortos. Os que nascem vivos geralmente são fracos e atuam como fonte de transmissão vertical da infecção (Oliveira et al., 2007; SILVA et al., 2008). Essas manifestações são comuns aos sorovares Canicola, Pomona e Icterohemorrhagiae (SOTO et al., 2007) e mais prováveis nos animais com infecção recente ou com baixa imunidade. Por outro lado, nas infecções endêmicas, onde as fêmeas já desenvolveram alguma imunidade contra o agente os sintomas reprodutivos podem ser brandos (AZEVEDO et al., 2008).

No Brasil, os primeiros isolamentos de leptospiras em suínos ocorreram no Estado de São Paulo, na década de 1950 e, desde então, foi observada grande participação do sorovar Pomona nos rebanhos nacionais (OLIVEIRA; LIMA, 1996), a exemplo de observações feitas em outros países e em razão de os suínos constituírem o principal reservatório deste sorovar (MILLER et al., 1990).

Nos últimos anos o sorovar Icterohaemorrhagiae vem assumindo maior importância nas criações de suínos de vários estados brasileiros, o que parece estar relacionado com a evolução pela qual tem passado a suinocultura no país (FAVERO et al., 2002), devido a elevada frequência observada em granjas tecnificadas (VALENÇA, 2009; OSAVA et al., 2010), nas quais as condições de abrigo e alimentação existentes nas unidades de produção são benéficas aos roedores que ali se instalam, otimizando, inclusive, o seu desempenho reprodutivo e, logo, o crescimento populacional (VILLAFANE et al., 2012).

No entanto, em granjas não-tecnificadas também tem se registrado uma elevada frequência do sorovar Icterohaemorrhagiae (AGUIAR et al., 2006; CAVALCANTI, 2011), resultando de sistemas de criação que permitem contato dos animais com fontes de infecção no ambiente (BOQVIST, 2002) e também da regular ausência de medidas profiláticas, como vacinação e controle estratégico de roedores, nas criações de suínos do Brasil (AZEVEDO et al., 2006).

No Estado do Pará, estudo de Ramos (2007) demonstraram uma elevada frequência de anti-corpos anti-*Leptospira* spp. em suínos criados intensivamente (75,7%), superando as que foram relatadas em outras espécies domésticas, como bubalinos, caprinos e eqüinos e (42,9%, 30% e 41,18%, respectivamente) (BRASIL, 1986; ROCHA et al., 2012). O sorovar Icterohaemorrhagiae também foi o mais frequente em suínos do Estado (16,38%) (RAMOS et

al., 2007) contrariando os baixos percentuais observados em ovinos (1,92%) (MORAES et al., 2012) e em eqüinos (6,3%) (DOS SANTOS, 2007).

O diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp. em suínos inicia-se pela evidência de sinais epidemiológicos e clínicos da doença e é suportado por exames laboratoriais baseados na detecção direta ou indireta do agente. Testes diretos investigam antígenos ou ácidos nucleicos do microrganismo em tecidos e fluidos corpóreos dos animais, enquanto que testes indiretos detectam anticorpos anti-*Leptospira*, sobretudo, no soro sanguíneo, sendo mais adotada, e também recomendada pela OMS para utilização em rebanhos suínos, a prova da soroglutinação microscópica (SAM), considerada o padrão-ouro (SOTO et al., 2007; LUCHEIS; FERREIRA, 2011).

Na SAM, sorovares mantidos sob cultivo fornecem antígenos vivos que são postos para reagir com o soro suspeito. Após incubação, verifica-se, ao microscópio de campo escuro, se houve aglutinação da mistura, e os títulos são determinados tendo como ponto de corte a maior diluição do soro na qual ocorre 50% de aglutinação (LEVETT, 2001).

A acurácia da SAM é maior para os anticorpos anti-*Leptospira* spp. da classe IgM que, em suínos, apresentam-se transitoriamente nos primeiros meses da infecção, o que confere à prova baixa sensibilidade, ou seja, reduzida eficiência em identificar animais verdadeiramente infectados como "positivos", em algumas situações nas quais a titulação de IgM é baixa, como na fase aguda, nas infecções leves e em portadores crônicos (AZEVEDO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; BARCELLOS et al., 2009). Apesar disso, animais mais velhos que tiveram prolongada exposição aos antígenos leptospíricos são detectados com grande eficácia por essa prova, justificando, dentre outros motivos, seu emprego preferencialmente no plantel de reprodução (DELBEM et al., 2004; JUNG et al., 2009; PEREIRA et al., 2009).

A SAM se destaca pela boa especificidade, que é a probabilidade de identificar um animal verdadeiramente não-infectado como "negativo" (BARCELLOS et al., 2009), podendo, neste sentido, somente sofrer interferência de anticorpos IgM pós-vacinais, os quais podem ser detectados por um período de até 180 dias pós-vacinação (SOTO, 2006), ou maternos, transferidos para os leitões durante a lactação, cuja vida média no plasma é de 16 dias, tornando-se raros a partir da 10 semana de vida (BOLT, 1990)

O isolamento do agente em meio semi sólido de Fletcher permite o diagnóstico preciso da infecção, porém é um procedimento laborioso e demorado, podendo durar até seis meses. O mesmo pode ser dito da inoculação em animais de laboratório, por isso essas duas técnicas são geralmente restritas ao diagnóstico individual ou em animais de elevado valor econômico (LUCHEIS; FERREIRA JR, 2011).

Algumas técnicas recentes, baseadas no reconhecimento de antígenos específicos, ainda não são utilizadas rotineiramente ou se aplicam a condições experimentais, como é o caso do ELISA e da imunohistoquímica, respectivamente (GONÇALVES; COSTA, 2011).

Da mesma forma, a técnica da PCR, embora promissora para o diagnóstico precoce da doença por não depender da presença de anticorpos circulantes, ainda apresenta limitações quanto à detecção do DNA leptospiral em amostras clínicas, de forma que permanece vinculada à área de pesquisa (JOUGLARD, 2005).

Achados de necropsia incluem anemia, icterícia, petéquias e sufusões subserosas e submucosas, esplenomegalia, hepatomegalia com áreas amareladas irregulares, rins congestos com hemorragia cortical e focos necróticos. Petéquias pleurais, epi e endocárdicas e hepatização vermelha de lobos pulmonares podem acontecer nos casos mais graves (SOTO et al., 2007).

O diagnóstico da infecção crônica é auxiliado pela observação de lesões tardias características, encontradas nos rins, constituídas de poucos ou múltiplos pontos esbranquiçados que, no entanto, podem também ser produzidos por outros agentes bacterianos e virais (BOQVIST, 2002. OLIVEIRA FILHO et al., 2012).

Nefrite, nefrose, cistite, cistos renais, endometrite, salpingite e vaginite são verificadas no exame histopatológico de fêmeas sororreagentes ao sorovar *Icterohaemorrhagiae* (GONÇALVES; COSTA, 2011).

No que diz respeito ao controle da infecção, deve-se observar que a presença de água parada é uma necessidade básica para a sobrevivência das leptospiros, por isso a drenagem das áreas alagadiças próximas às instalações dos suínos, a substituição dos bebedouros tipo canaleta pelos automáticos e a higienização periódica dos reservatórios de água são intervenções recomendadas. Adicionalmente, deve ser realizado o controle dos roedores, que são a fonte mais comum da infecção para os suínos (DELBEM, 2004).

O controle eficiente da população de roedores envolve ações mecânicas, químicas e biológicas que compõem o chamado "controle integrado". No entanto, o uso de inimigos naturais, ou seja, gatos, é desaconselhável na suinocultura, pela possibilidade de transmissão da toxoplasmose. Assim, a eliminação dos ratos deve se basear na remoção de condições atrativas aos mesmos, bem como daquelas que facilitam o seu acesso e/ou permanência no interior das instalações, aliando-se a isso o uso de raticidas com ação anticoagulante de atuação lenta (AMARAL et al., 2006).

A vacinação é indicada para o controle da leptospirose em granjas com condições favoráveis à infecção, como muita umidade, criação extensiva e contato com animais

silvestres. Deve ser feita através de bacterinas contendo os sorovares mais prevalentes na região, inativados geralmente com formol e adicionados de adjuvante. As formulações comerciais no Brasil podem conter apenas leptospira, mas a maioria das vacinas apresentam uma associação com dois outros antígenos (*Erysipelothrix rhusiopathiae* e parvovírus) (BARCELLOS; BOROWSKI; ALMEIDA, 2007).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e procedência das amostras de estudo

Foi realizada a amostragem por conveniência em abatedouros e criações de suínos do Estado do Pará, totalizando 310 amostras de soros suínos provenientes das Mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó.

Das 310 amostras, 151 foram colhidas em matadouros, sendo 96 provenientes de estabelecimentos com Serviço de Inspeção Estadual (S.I.E.) sanitária e 55 de estabelecimentos sem S.I.E., caracterizados, portanto, como de abate clandestino. As colheitas aconteceram nos meses de abril a outubro de 2010 e encerraram devido ao fechamento do único frigorífico com S.I.E. que atendia aos municípios das mesorregiões estudadas.

Entre os meses de julho a outubro de 2012, outras 159 amostras foram obtidas diretamente em pequenas criações de suínos localizadas em municípios das mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém (Tabela 4).

Tabela 4 - Quantidade de amostras de soros suínos provenientes de criações localizadas em municípios das mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém.

Mesorregião	Município	Criação	Nº de amostras
Nordeste Paraense	Castanhal	A	21
		B	17
		C	20
	Sto. Antônio do Tauá	D	20
	Igarapé-Miri	E	11
Metropolitana de Belém	Belém	F	21
		G	09
	Benevides	H	26
Total			159

As amostras colhidas nas criações puderam ser estratificadas conforme a faixa etária graças aos registros existentes nas propriedades (Tabela 5). Por outro lado, a idade dos suínos admitidos nos estabelecimentos de abate não pôde ser conhecida, uma vez que essa informação não constava no histórico dos animais, sabendo-se apenas que eram adultos com idade geralmente igual ou superior a seis meses.

Tabela 5 - Número de amostras de soros suínos provenientes de criações localizadas nas mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém em função da idade dos animais à colheita.

Idade (meses)	Semanas de vida	Criação								Total
		A	B	C	D	E	F	G	H	
<1	1 a 4		2	5	5				6	18
1	5 a 8		8	5	5	3		5	5	31
2	9 a 12	7	7	5	6		9	4	5	43
3	12 a 16			5	6	3	5		5	24
4	17 a 20	7			5		7			19
5	21 a 24				5	5			5	15
6	25 a 28	7			2					09
Total		21	17	20	34	11	21	09	26	159

4.2 Método de colheita

Nos animais de abate, foram recolhidos cerca de 10 ml de sangue oriundo da sangria, diretamente em tubos coletores de vidro, que foram imediatamente acondicionados em recipiente térmico sob temperatura de resfriamento, transportados e centrifugados no mesmo dia, sendo o sobrenadante (soro) de cada amostra transferido para microtubos e mantido sob congelamento a -20 °C até o processamento.

Para a obtenção de soro nas criações, os animais foram contidos manualmente e colocados em decúbito dorsal para a punção da veia jugular conforme técnica descrita por Moreno et al. (1997). O volume de sangue colhido variou de 2 mL em animais da maternidade a 10 mL nos animais em crescimento/terminação, sendo imediatamente transferido para tubos coletores de vidro, repetindo-se os passos anteriormente descritos para a refrigeração, centrifugação e congelamento do soro.

4.3 Exames sorológicos

As 310 amostras de soro suíno foram submetidas à pesquisa de anticorpos anti-T. gondii e anti-N. caninum pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI) e anti-B. abortus pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). A pesquisa de anticorpos anti-Leptospira sp. foi conduzida em 305 amostras pela técnica da Soroaglutinação Microscópica (SAM) (Tabelas 6, 7 e 8).

Tabela 6 - Número de amostras de soros suínos provenientes das mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó e submetidas à pesquisa de anticorpos anti-T. gondii e anti-N. caninum pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI), anti-B. abortus pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e anti-Leptospira spp. pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) em função da mesorregião de origem dos animais.

Mesorregião	RIFI/AAT	SAM
Metropolitana de Belém	58	56
Nordeste Paraense	229	226
Marajó	23	23
Total	310	305

Tabela 7 - Número de amostras de soros suínos provenientes das mesorregiões Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó e submetidas à pesquisa de anticorpos anti-T. gondii e anti-N. caninum pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI), anti-B. Abortus pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e anti-Leptospira spp. pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) em função do estabelecimento onde foram colhidas.

Procedência	RIFI/AAT	SAM
Matadouro com S.I.E.	96	96
Matadouro sem S.I.E.	55	55
Criações	159	154
Total	310	305

S.I.E. = Serviço de Inspeção Estadual

Tabela 8 - Número de amostras de soros suínos provenientes das mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém e submetidas à pesquisa de anticorpos anti-T. gondii e anti-N. caninum pela Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI), anti-Leptospira spp. pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) e anti-Brucella abortus. pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) em função dos municípios de origem* e com o tipo de estabelecimento onde foram colhidas.

Mesorregião	Município	Abate com S.I.E.	Abate sem S.I.E.	Criação	RIFI/AAT	SAM
Nordeste Paraense	Bujaru	96			96	96
	Castanhal		30	58	88	88
	Igarapé-miri			11	11	09
	Santo Antônio do Tauá			34	34	33
Metropolitana de Belém	Belém		01	30	31	29
	Benevides			26	26	26
	Marituba		01		01	01
Total		96	32	159	287	282

*As amostras provenientes da Mesorregião do Marajó foram obtidas exclusivamente em estabelecimentos de abate que não mantinham registro da municipalidade de origem dos animais, por isso não estão incluídas nesta comparação.

S.I.E = Serviço de Inspeção Estadual

4.4 Processamento das Amostras

Para o diagnóstico sorológico das infecções por T.gondii e do N.caninum as 310 amostras do estudo foram submetidas à reação da imunofluorescência indireta (RIFI) no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP). Para o diagnóstico da infecção por B. abortus, as 310 amostras foram submetidas ao teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da FMVZ-USP, onde 305 amostras foram também examinadas pela soroaglutinação microscópica (SAM) para o diagnóstico da infecção por Leptospira sp..

4.4.1 Reação da Imunofluorescência Indireta (RIFI)

a) Antígenos

As provas utilizaram antígenos vivos produzidos na própria instituição, representados por taquizoítos inteiros da amostra RH de *T. gondii*, mantidos em camundondos suíços albinos, e taquizoítos inteiros da amostra NC-1 de *N. caninum* mantidos em cultivo de monócito bovino M-617.

Para a realização da RIFI, os antígenos de cada agente foram suspensos e depositados em lâminas conforme o procedimento a seguir: centrifugação a 2000 x g com uma solução fosfatada tamponada (PBS) pH 7,2 (1,37M NaCl, 0,027M KCl, 0,105M Na₂HPO₄, 0,018M KH₂PO₄) por 10 minutos, desprezo do sobrenadante e ressuspensão do sedimento com a mesma solução. Uma terceira lavagem foi realizada com solução salina de NaCl 0,85%, o sobrenadante foi dispensado e o sedimento por fim foi ressuspensionado nesta mesma solução.

Os taquizoítos foram então contados em câmara de Neubauer e a concentração final foi ajustada para $1,0 \times 10^7$ taquizoítos/mL. Em lâminas contendo 12 cavidades (PGC Scientifics 60-5453-46) foram depositadas alíquotas de 20 µL da suspensão de taquizoítos em cada cavidade, retirando-se o excesso; em seguida as lâminas foram secas à temperatura ambiente, fixadas em metanol e armazenadas em caixas de polipropileno sob congelamento a -20°C até a realização da RIFI.

b) Preparo das lâminas para *Toxoplasma gondii*

O teste foi realizado segundo protocolo de Camargo (1974). Primeiramente os soros foram diluídos em PBS pH 7,2 na proporção 1:64 (GARCIA et al., 1999). Em seguida 20 µL dos soros diluídos foram depositados nas respectivas cavidades de uma lâmina já sensibilizada com antígeno de *T. gondii*, sendo a lâmina logo após incubada em estufa a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Procedeu-se então a lavagem das lâminas com a mesma solução tampão já citada, durante 10 minutos, por três vezes.

Após a secagem das lâminas à temperatura ambiente, foram adicionados nas cavidades 20 µL de uma solução contendo conjugado (anti-IgG suína, molécula inteira, SIGMA, St. Louis, MO, USA) diluído a 1:400 em PBS pH 7,2 contendo azul de Evans a 0,001%. As

lâminas foram novamente incubadas a 37°C durante 30 minutos em câmara úmida, submetidas às três lavagens e secas à temperatura ambiente sob proteção da luz. Em seguida foi feita a lavagem com glicerina tamponada pH 8,0 e lamínula.

Soros controles positivo e negativo de suínos para *T. gondii* foram submetidos aos mesmos procedimentos descritos acima e adicionados em cada lâmina.

c) Preparo das lâminas para *Neospora caninum*

A reação foi feita segundo Dubey et al. (1988b). Os soros foram diluídos a 1:64 em PBS pH 7,2. Os soros foram diluídos a 1:64 (BUXTON et al., 1997) em PBS pH 7,2 acrescida de soroalbumina bovina 1% (0,147M NaCl, 0,0018M NaH₂PO₄, 0,0084M Na₂HPO₄) e 20 µL do soro diluído foram depositados nas lâminas já sensibilizadas, as quais foram então incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Em seguida, foram feitas três lavagens de 5 minutos cada com solução tampão carbonatada pH 9,0 (0,145M NaCl, 0,108M Na₂CO₃, 0,4M NaHCO₃) e adicionado o conjugado anti-IgG suína diluído a 1:600 em solução de PBS pH 7,2, contendo azul de Evans a 0,001%. As lâminas foram incubadas novamente a 37°C por 30 minutos e depois submetidas novamente às três lavagens já citadas. Após secagem à temperatura ambiente sob proteção da luz, procedeu-se a montagem e leitura das lâminas.

Em cada lâmina foram utilizados soros controle positivo e negativo de suínos para *N. caninum*.

d) Leitura das lâminas de imunofluorescência indireta

A leitura foi feita em microscópio de fluorescência (Olympus® BX60-FLA) com aumento de 400x. Foram consideradas positivas as reações que resultaram na presença de taquizoítos com fluorescência periférica total e homogênea e negativas as reações nas quais a fluorescência dos taquizoítos foi parcial ou apical (PARÉ; HIETALA; THURMOND, 1995).

Os soros positivos na diluição 1:64 foram diluídos sucessivamente na base 2 e submetidos à RIFI, conforme protocolo já descrito, para titulação. O título da amostra foi o denominador da maior diluição observada como positiva.

4.4.2 Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

O antígeno utilizado na prova de soroaglutinação com antígeno acidificado tamponado (AAT) consistiu de uma suspensão celular inativada da estirpe 1119-3 de *B. abortus*, na concentração de 8,0% e pH 3,65, corada pelo Rosa Bengala (ALTON et al., 1976). O antígeno para realização do teste do AAT foi produzido pelo Instituto Biológico de São Paulo (Instituto Biológico, São Paulo, Brasil) e o teste foi realizado de acordo com as recomendações do Manual do Programa de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (LAGE et al., 2006).

4.4.3 Soroaglutinação microscópica (SAM)

Para a realização da SAM foi empregada uma coleção de antígenos vivos incluindo 23 variantes sorológicas de leptospiros patogênicas (*Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Bataviae*, *Canicola*, *Whitcombi*, *Cynoptery*, *Grippotyphosa*, *Hebdomadis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Javanica*, *Panama*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Hardjo* (*hardjoprajitno*), *Wolffi*, *Hardjo* (*hardjobovis*), *Shermani*, *Tarassovi*, *Sentot*) e uma de leptospiros saprófitas (*Patoc*).

A triagem foi realizada com a mistura de soro (diluído previamente a 1:50 com 0,1 mL de soro diluído em 4,9 mL de solução salina tamponada de Sorensen) e antígeno na diluição final 1:100 (SANTA ROSA, 1970). Foram utilizadas placas de poliestireno de fundo chato e formato em U.

Na segunda etapa da reação foi efetuada a titulação dos soros que reagiram na triagem pelo re-teste com os respectivos antígenos em série geométrica de razão de dois, a partir da diluição 1:100.

As misturas de soro e antígeno foram incubadas em temperatura ambiente (25° C) durante duas horas. Ao término desse período a leitura foi efetuada em microscópio em condensador de campo escuro e objetiva de longa distância, atentando-se para a relação entre presença de leptospiros livres e grumos de aglutinação. O título foi determinado pela recíproca de maior diluição do soro com 50% de leptospiros aglutinadas por campo microscópico.

4.5 Análise dos fatores de risco

A investigação de variáveis que pudessem constituir fatores de risco para as infecções por *T. gondii* e *N. caninum* foi feita através de questionário epidemiológico aplicado a proprietários e/ou tratadores de cada propriedade e constituído por perguntas objetivas referentes às instalações, tipo de manejo, características da produção e aspectos higiênico-sanitários (Apêndice A).

4.6 Análise estatística

Os resultados dos exames sorológicos foram tabulados e tratados na forma de distribuição de frequências, sendo as diferenças estatísticas entre as variáveis estudadas determinada através do teste do Chi-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fischer, quando necessário, com nível de significância de 5%.

Para a identificação dos fatores de risco, os resultados dos questionários epidemiológicos foram tabulados e as odds ratios para cada variável investigada foram calculadas pelo método de Mantel-Haenszel considerando-se como variável dependente o status sorológico do animal (positivo ou negativo) para os patógenos estudados. Todos os cálculos estatísticos foram realizados no software SAS 2000.

5 RESULTADOS

5.1 Anticorpos anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Brucella abortus e Leptospira sp. em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó

Na população em estudo, a frequência de sororreagentes contra *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* sp. está representada na Figura 3 e foi, respectivamente: 6,77% (21/310), 5,16% (16/310), 1,61% (5/310) e 4,84% (15/305), sendo observada diferença estatística ($p < 0,05$) apenas para *B. abortus*.

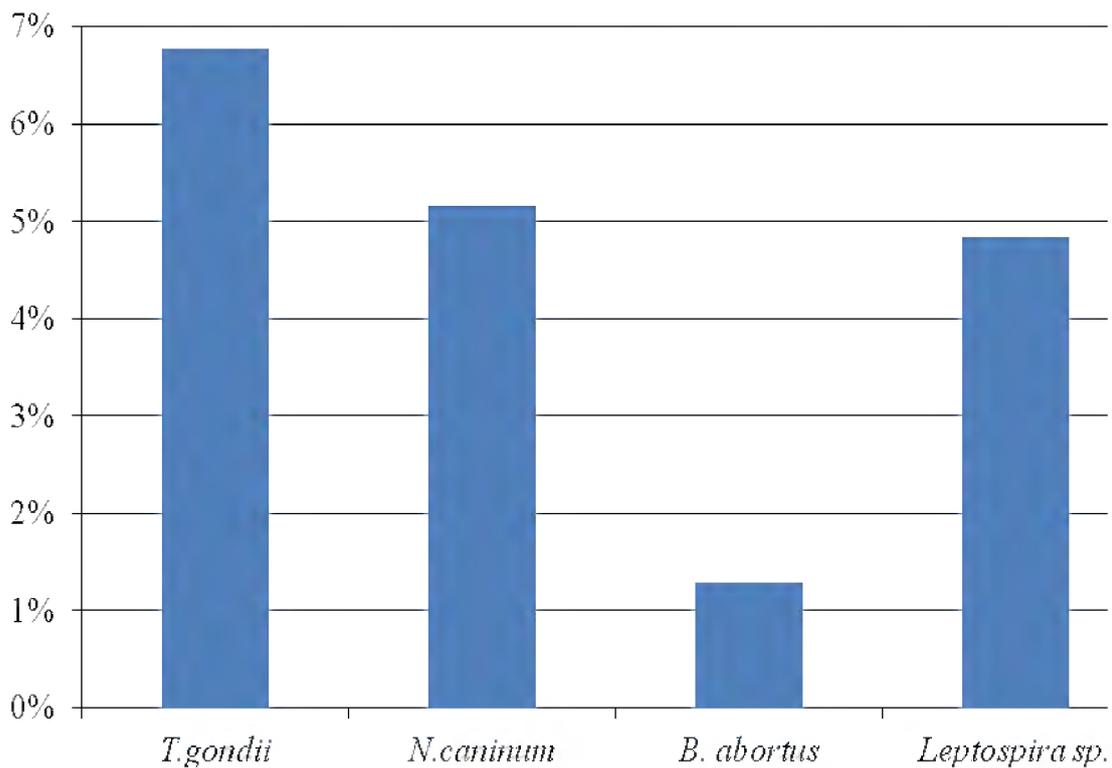


Figura 3 - Frequência de anticorpos contra *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* sp. em soros de suínos nativos de três mesorregiões do Estado do Pará: Nordeste Paraense, Metropolitana de Belém e do Marajó.

Dados sobre o levantamento de sororreagentes em cada mesorregião estudada são apresentados na Figura 4, a seguir.

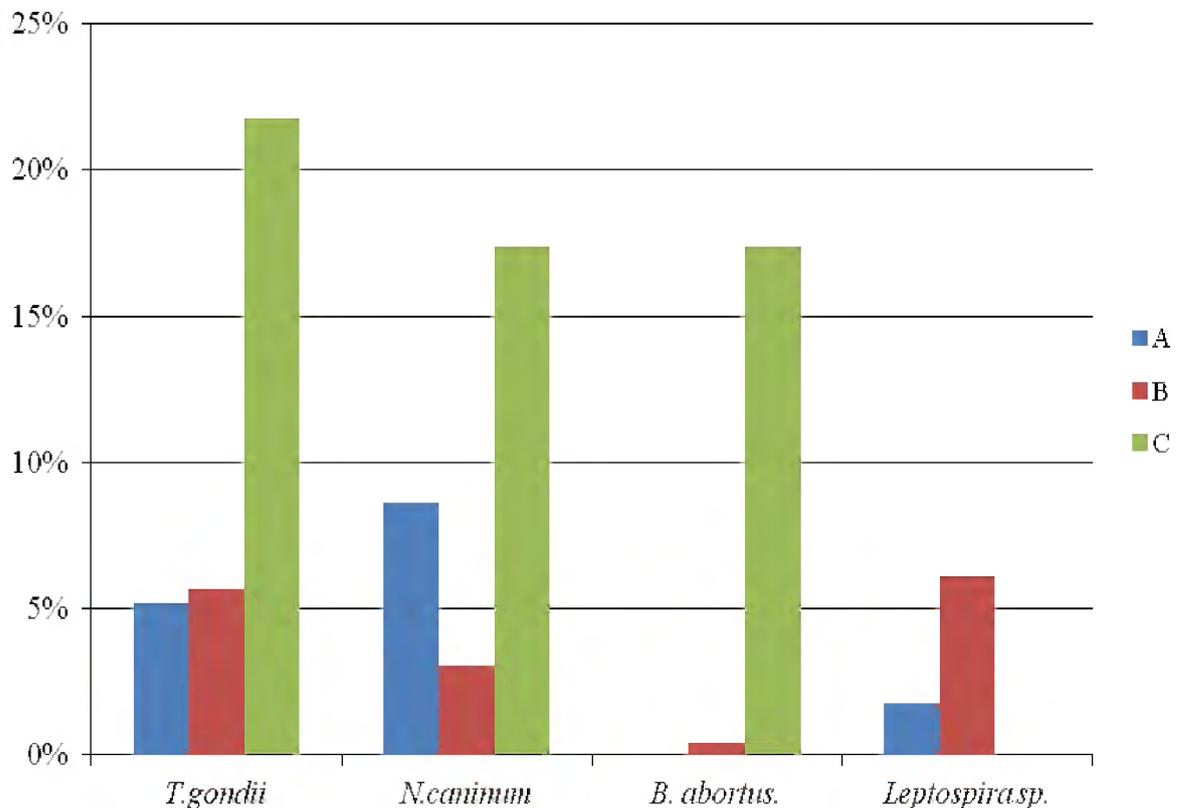


Figura 4 - Frequência de suínos sororreagentes contra *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira sp.* nas mesorregiões Metropolitana de Belém (A), Nordeste Paraense (B) e do Marajó (C).

A Figura 4 expressa os valores de sororreatividade contra os antígenos testados nas mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó, que foram, respectivamente:

- Para *T. gondii*: 5,17% (3/58), 5,68% (13/229) e 21,74% (5/23), havendo diferença estatística ($p < 0,05$) entre a Mesorregião do Marajó e as outras duas.
- Para *N. caninum*: 8,62% (5/58), 3,06% (7/229) 17,29% (4/23), com diferença estatística ($p < 0,05$) entre as Mesorregiões Nordeste Paraense e do Marajó.
- Para *B. abortus*: 0% (0/58), 0,44% (1/229) e 17,29% (4/23), sendo observada diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as Mesorregiões Metropolitana de Belém e do Marajó e altamente significativa ($p < 0,005$) entre as Mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém.

- Para *Leptospira* sp.: 1,79% (1/56), 6,11% (14/229) e 0% (0/23), não sendo observada diferença estatística entre as amostras.

5.2 Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, e *Leptospira* sp. em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó conforme o sítio de colheita (criações e abatedouros)

No caso particular das amostras obtidas em criações, a frequência de sororreagentes para *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* sp. foi, respectivamente, 13,21% (21/159), 5,56% (9/159), 0% (0/159) e 5,84% (9/154) (Figura 5).

Quanto às amostras colhidas em estabelecimentos de abate, a frequência de sororreagentes foi, na mesma ordem acima, 9,27% (14/151), 4,64% (7/151), 3,31% (5/151) e 3,97% (6/151) (Figura 5).

Entre as amostras reagentes de criações e de abate, diferença estatística significativa ($p < 0,05$) ocorreu somente para *B. abortus*.

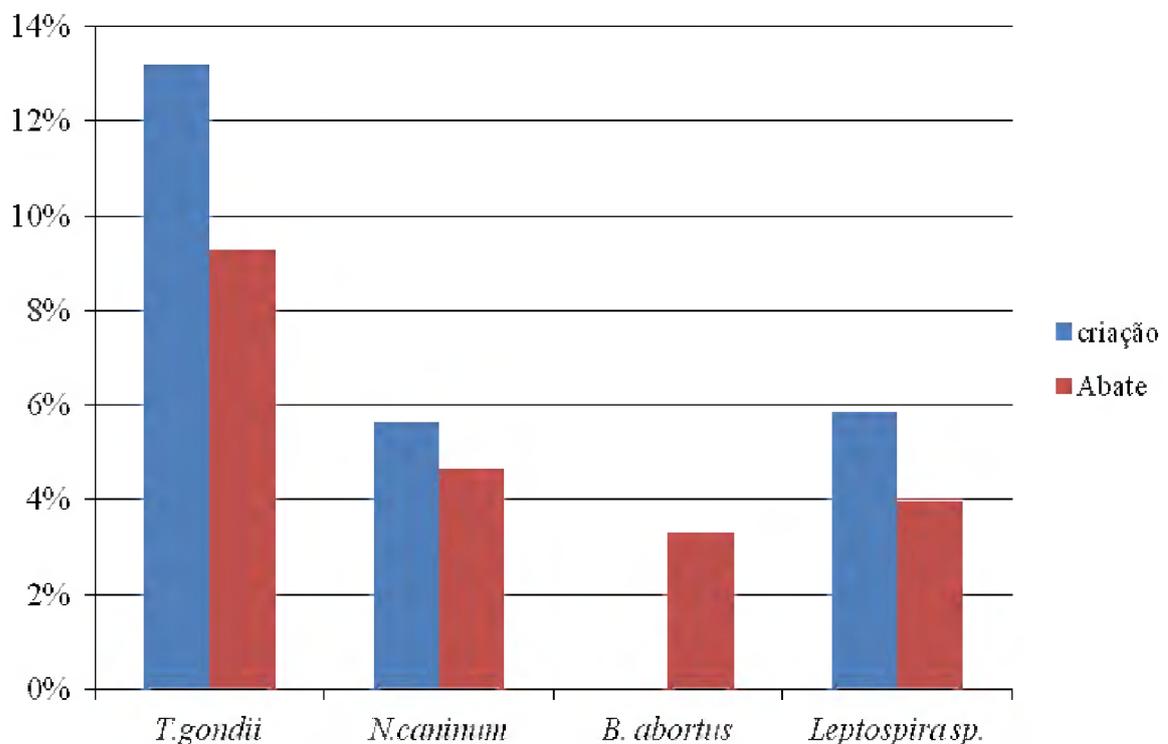


Figura 5 - Frequência de anticorpos contra *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* sp. em soros de suínos colhidos em criações e em estabelecimentos de abate do Estado do Pará.

Os dados da Figura 6 representam as frequências de suínos sororreagentes aos antígenos pesquisados a partir das amostras colhidas nas criações, estabelecimentos de abate com S.I.E e estabelecimentos de abate sem S.I.E., cujos valores foram, respectivamente:

- Reagentes para *T. gondii*: 4,40% (7/159), 6,25% (6/96) e 14,55% (8/55) das amostras, sendo observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre as procedentes de criações e as procedentes de abate sem S.I.E.. As amostras de abate com e sem S.I.E. não diferiram estatisticamente entre si.
- Reagentes para *N. caninum*: 5,66% (9/159), 3,13% (3/96) e 7,27% (4/55) das amostras, não sendo observada diferença estatística.
- Reagentes para *B. abortus*: 0% (0/159), 1,04% (1/96) e 7,27% (4/55), das amostras, observando-se diferença estatística altamente significativa ($p < 0,005$) entre as amostras procedentes de criações e as procedentes de abate sem S.I.E.. As amostras de abate com e sem S.I.E não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$).
- Reagentes para sorovares de *Leptospira sp.*: 5,84% (9/154), 3,13% (3/96) e 5,45% (3/55) das amostras, não se observando diferença estatística.

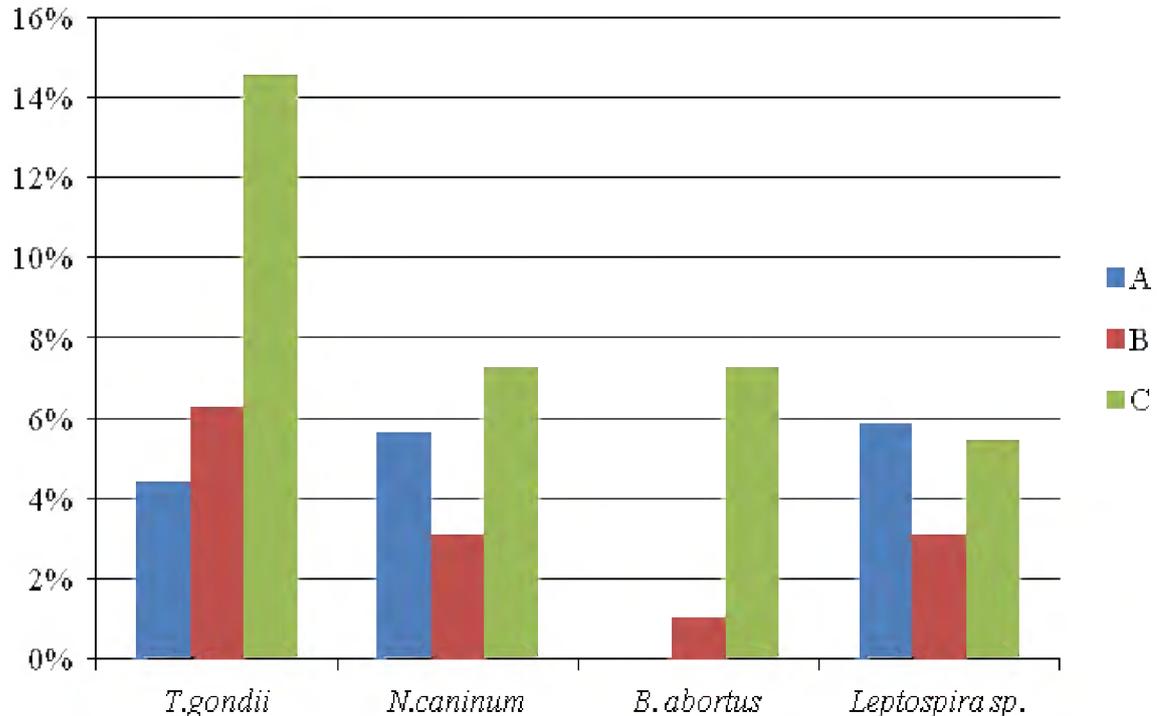


Figura 6 - Frequência de soros de suínos reagentes contra *T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira sp.* procedentes de criações (A), abate com S.I.E. (B) e abate sem S.I.E. (C) no Estado do Pará.

5.3 Títulos de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó

Os títulos de anticorpos contra *T. gondii* atingiram valores mais elevados nas amostras da Mesorregião Nordeste Paraense, moderados nas amostras da Mesorregião do Marajó e baixos nas amostras procedentes Mesorregião Metropolitana de Belém (Figura 7).

Tanto as amostras de soro colhidas nas criações e quanto as colhidas ao abate mostraram variação nos valores de títulos positivos para anti-*T.godii*, porém, sem diferença estatística significativa entre os mesmos (Figura 8).

Nas amostras provenientes de criações, que puderam ser organizadas de acordo com a faixa etária dos animais, a ocorrência de títulos de anticorpos contra *T. gondii* foi mais frequente em idades menores que um mês e aos cinco meses de vida (Tabela 9).

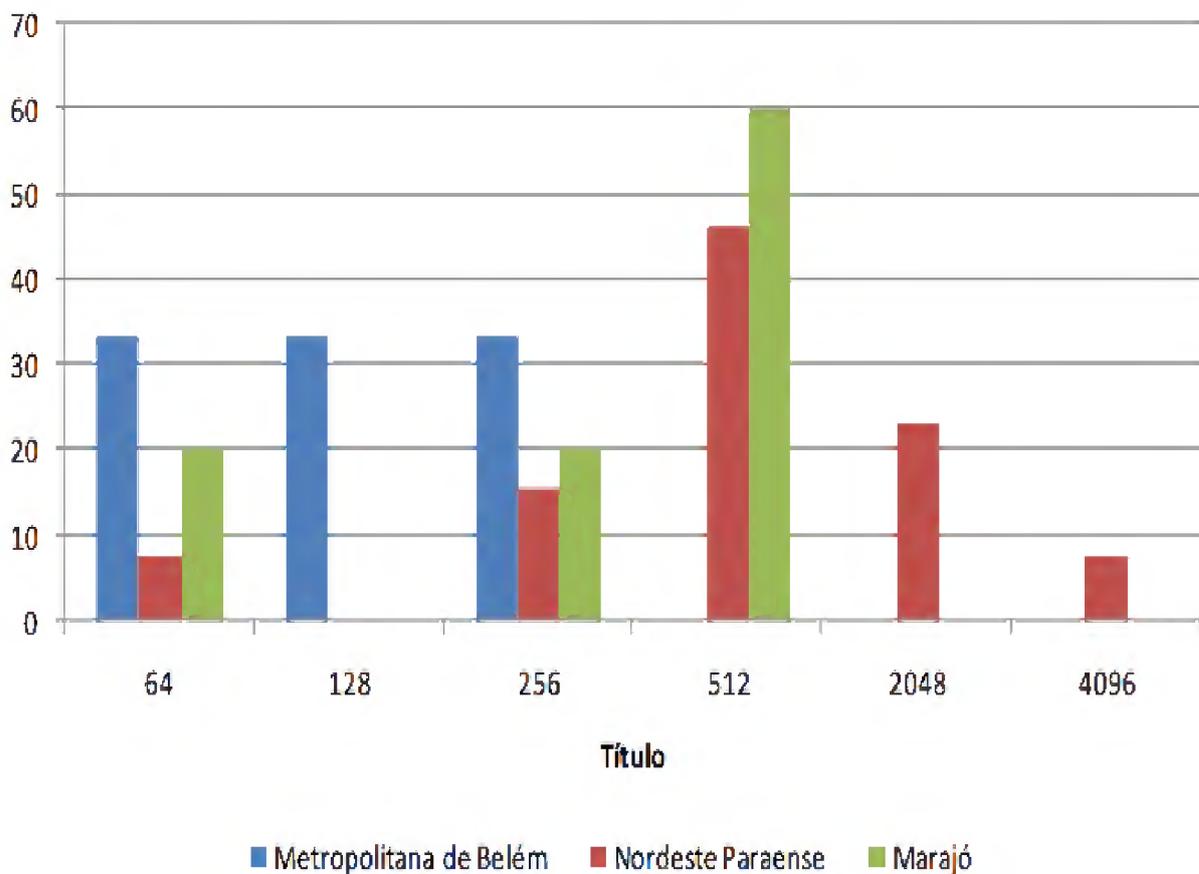


Figura 7 - Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra *T. gondii* nas Mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó.

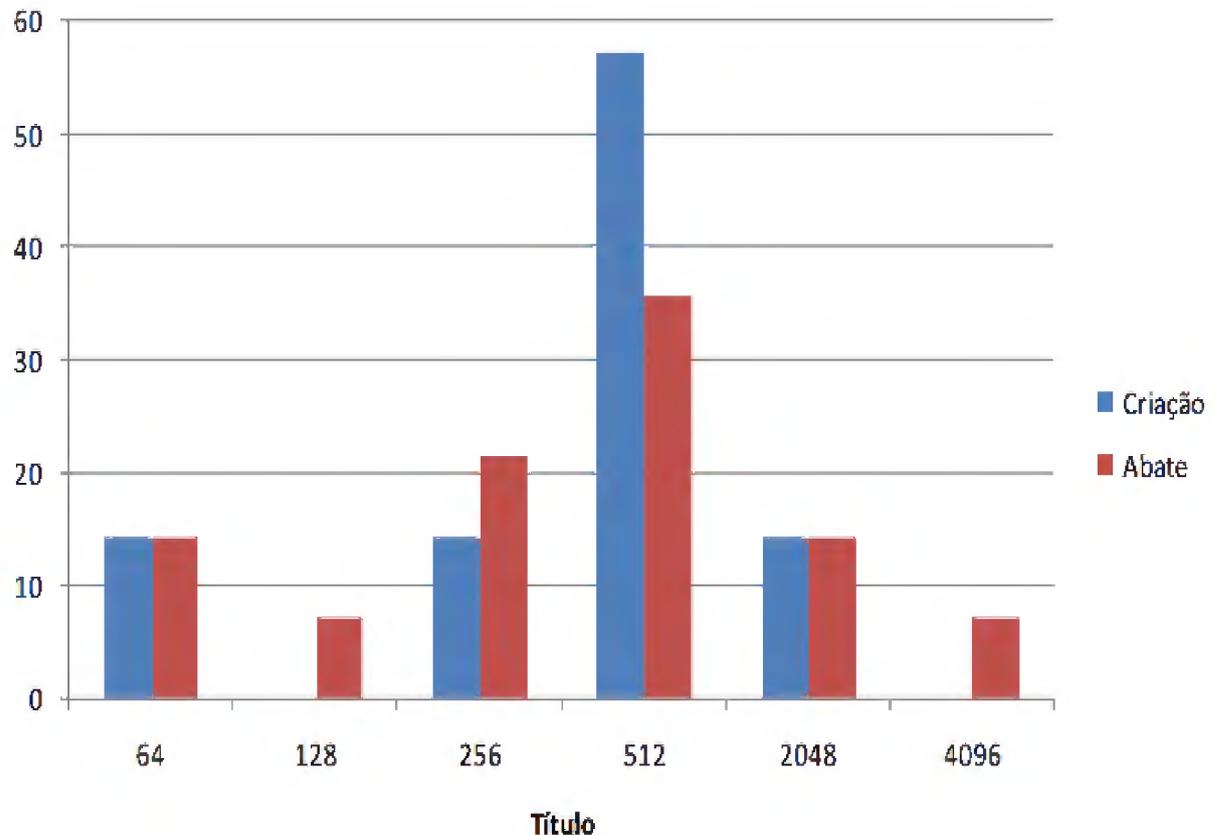


Figura 8 - Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra *T. gondii* em amostras colhidas em criações e estabelecimentos de abate do Estado do Pará.

Tabela 9 - Frequência de sororreagentes e títulos de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos com <1 a 6 meses de idade criados em propriedades localizadas nas Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.

Idade (meses)	n	+	%	Títulos							
				64		256		512		2048	
	n	+	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<1	18	04	22,22	0	0	1	25	3	75	0	0
1	31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	15	02	13,13	0	0	0	0	1	50	1	50
6	09	01	11,11	1	100	0	0	0	0	0	0
Total	159	07		1		1		4		1	

5.4 Títulos de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó

Os títulos de anticorpos contra *N. caninum* foram variáveis nas amostras procedentes das Mesorregiões Metropolitana de Belém e do Marajó e baixos nas amostras provenientes da Mesorregião Nordeste Paraense (Figura 9).

Os títulos positivos para anti-*N. caninum* apresentaram valores variáveis nas amostras colhidas em criações, sem diferença estatística entre si, e foram baixos nas amostras provenientes de abate, nas quais houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre o título 64 com os títulos 256 e 512 (Figura 10).

Nas amostras provenientes de criações, que puderam ser organizadas de acordo com a faixa etária dos animais, a ocorrência de títulos positivos pôde ser observada em idades inferiores a um mês e a partir dos três meses de vida (Tabela 10).

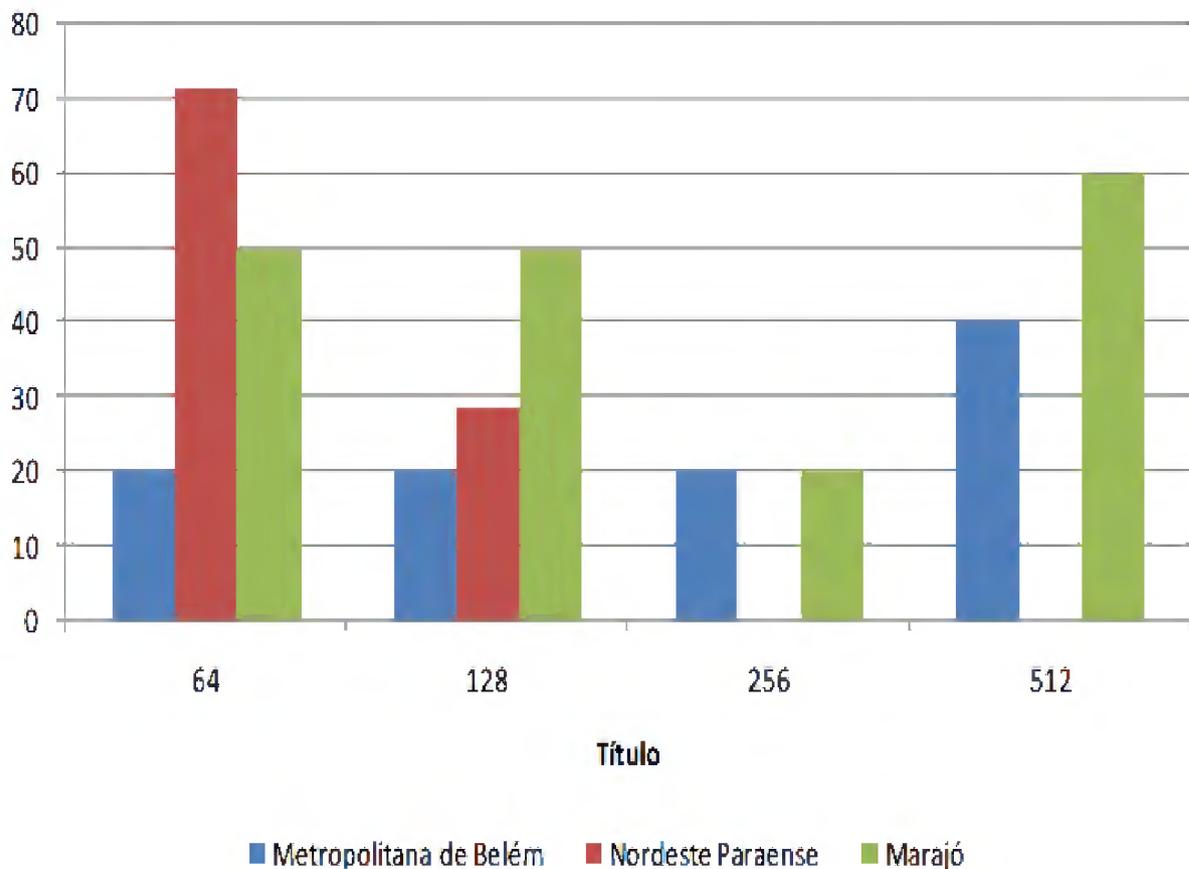


Figura 9. Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra *N. caninum* nas Mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó.

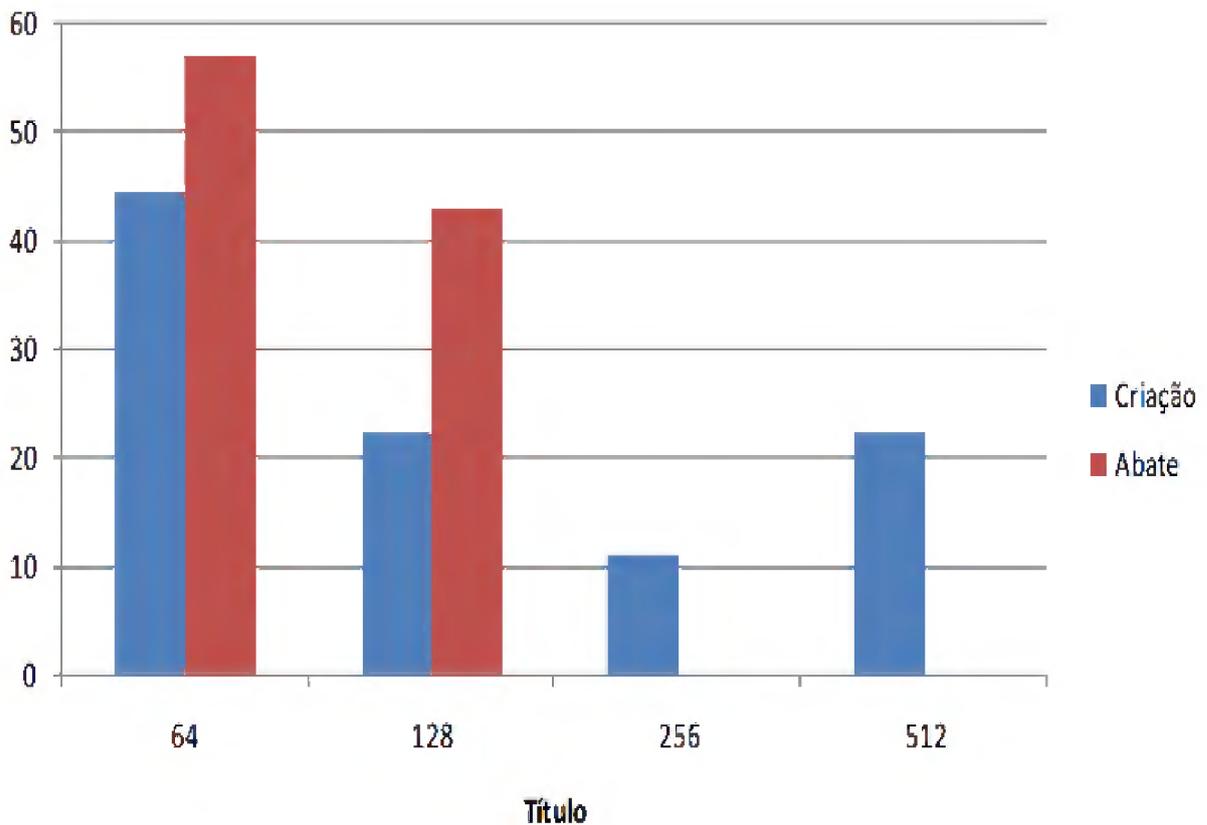


Figura 10 - Frequência (%) de suínos sororreagentes em função da titulação de anticorpos contra *N. caninum* em soros de leitões procedentes de criações e de estabelecimentos de abate do Estado do Pará.

Tabela 10 – Frequência de sororreagentes e títulos de anticorpos anti-*N. caninum* em suínos com <1 a 6 meses de idade criados em propriedades localizadas nas Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.

Idade (meses)	n	+	%	Títulos							
				64		128		256		512	
	n		%	n	%	n	%	n	%	n	%
<1	18	02	11,11	1	50	1	50	0	0	0	0
1	31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	24	03	12,50	1	33,33	0	0	1	33,33	1	33,33
4	19	02	10,53	0	0	1	50	0	0	1	50
5	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	09	02	22,22	2	100	0	0	0	0	0	0
Total	159	09		4		2		1		2	

5.5 Anticorpos contra sorovares de *Leptospira* sp. em soros de suínos das mesorregiões Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense e do Marajó

Seis sorovares de *Leptospira* sp. foram identificados na população estudada: Castellonis, Copenhageni, Pomona, Australis, Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Os mais frequentes foram Icterohaemorrhagiae e Pomona (Figura 11). Diferença estatística ($p < 0,05$) ocorreu somente entre Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes.

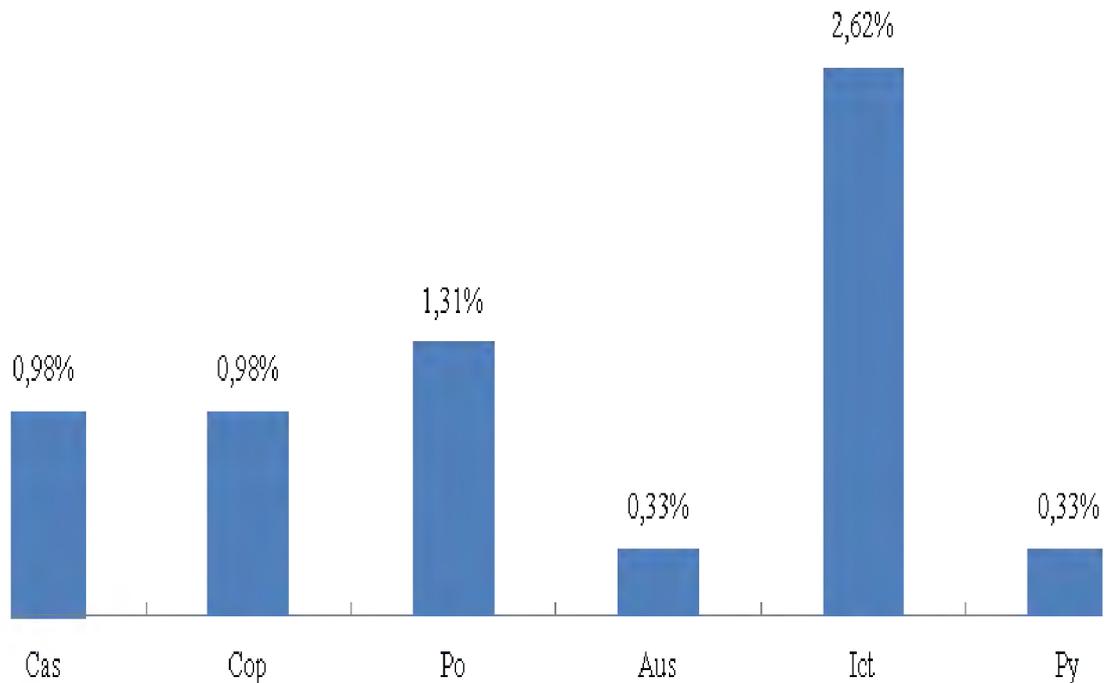


Figura 11 – Frequência de sorovares de *Leptospira* sp. em amostras de soro suíno colhidas em criações e estabelecimentos de abate do Estado do Pará. Cas = Castellonis, Cop = Copenhageni, Po = Pomona, Aus = Australis, Ict = Icterohaemorrhagiae, Py = Pyrogenes.

Nas criações, o sorovar Pomona foi o que produziu mais reações positivas, seguido do Copenhageni, do Castellonis e do Icterohaemorrhagiae, diferente do que foi observado nas amostras provenientes de abate, reativas somente ao sorovar Icterohaemorrhagiae. Tanto para Pomona quanto para Icterohaemorrhagiae, os títulos foram baixos em toda a população estudada (Tabela 11).

Tabela 11 - Títulos de anticorpos contra sorovares de *Leptospira* sp. em amostras de soro suíno colhidas em criações e estabelecimentos de abate do Estado do Pará.

Sorovar	N	Títulos					Criação (%)	Abate com S.I.E. (%)	Abate sem S.I.E. (%)
		100	200	400	800	1600			
Icterohaemorrhagiae	8	6	2				2(6,06)	3(3,13)	3(5,45)
Pomona	4	3	1				4(12,12)	0	0
Copenhageni	3		2			1	3(9,09)	0	0
Castellonis	3			1	2		3(9,09)	0	0
Australis	1				1		1(3,03)	0	0
Pyrogenes	1	1					1(3,03)	0	0
Total	20	10	5	1	3	1			

S.I.E. = Serviço de Inspeção Estadual

5.6 Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* e *Brucella abortus* em soros de suínos nativos de municípios das mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense

Nas 288 amostras sobre as quais se tinha conhecimento dos municípios de origem, oriundas tanto de criações quanto de abates, as frequências de soros positivos para *T. gondii*, *N. caninum* e *B. abortus* revelaram diferença estatisticamente significativa de resultados ($p < 0,05$) entre Marituba e Sto. Antônio do Tauá com relação ao *T. gondii*. A frequência de sororreagentes para *N. caninum* entre Belém e Benevides e entre Belém e Bujaru também diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) e apresentou diferença estatística altamente significativa ($p < 0,005$) entre Belém e Castanhal. Não houve diferença estatística entre os municípios para a infecção por *B. abortus* (Tabela 12).

Tabela 12 - Percentual de suínos sororreagentes contra *T. gondii*, *N. caninum* e *B. abortus* em sete municípios das Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.

Município	n	T. gondii		N. caninum		B. abortus	
		+	%	+	%	+	%
Belém	31	1	3,23	5	16,31	0	0
Benevides	26	1	3,85	0	0	0	0
Marituba	01	1	100	0	0	0	0
Bujaru	96	6	6,25	3	3,13	1	1,04
Castanhal	88	5	5,68	2	2,27	0	0
Igarapé-miri	11	2	18,18	0	0	0	0
Sto. Antônio do Tauá	34	0	0	2	5,88	0	0
Total	288	16		12		01	

5.7 Anticorpos anti--*Leptospira* sp. em soros de suínos nativos de municípios das mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense

A partir de 282 das amostras cujos municípios de origem eram conhecidos, verificou-se a ocorrência de sororreagentes contra *Leptospira* sp. nos municípios de Marituba, Castanhal, Bujaru e Sto. Antônio do Tauá (Tabela 13).

Dentre as criações visitadas para a colheita de soro de suínos, somente na Criação D, localizada em Sto. Antônio do Tauá, foi constatada sorologicamente a presença de infecção por *Leptospira* sp.. Os demais resultados positivos adviram de amostras colhidas em estabelecimentos de abate.

Conforme exposto anteriormente (pág. 53), os soros obtidos na ocasião do abate somente reagiram ao sorovar *Icterohaemorrhagiae*. Por isso, os demais sorovares identificados no presente estudo correspondem aos resultados obtidos na Criação D, onde tiveram frequência mais expressiva os sorovares *Pomona*, *Castelloni* e *Copenhageni* (Figura 12).

Tabela 13 - Percentual de suínos sororreagentes contra *Leptospira* sp. em sete municípios das Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense.

Município	N	+	%
Belém	29	0	0
Benevides	26	0	0
Marituba	01	1	100
Bujaru	96	3	3,13
Castanhal	88	2	2,27
Igarapé-miri	09	0	0
Sto. Antônio do Tauá	33	9	27,27
Total	282	15	

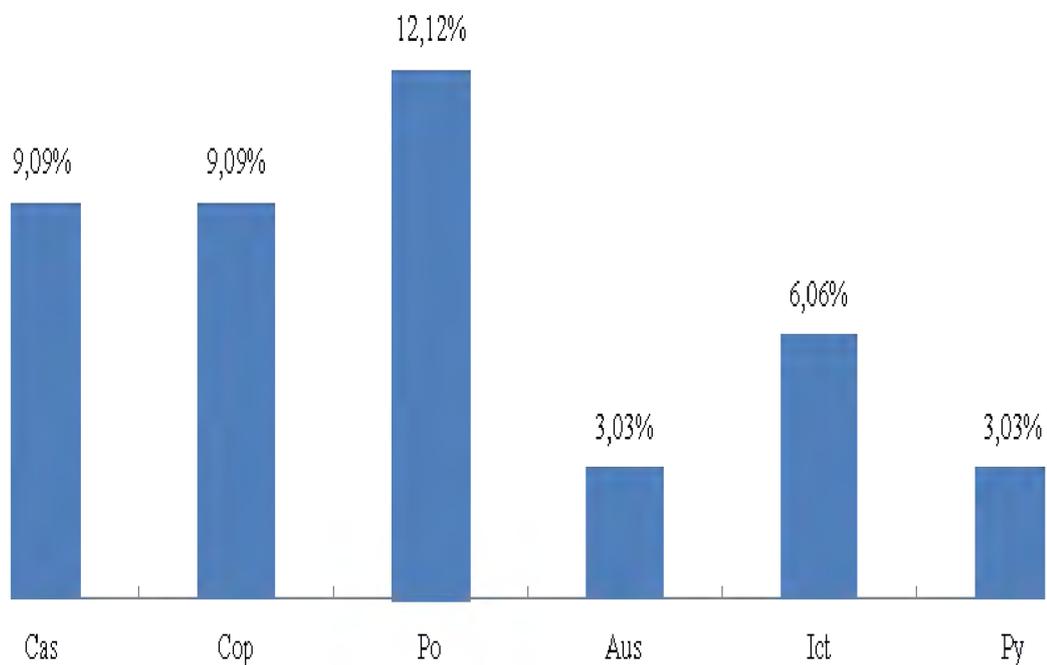


Figura 12 - Frequência de amostras de soros reagentes contra sorovares de *Leptospira* sp. em suínos criados em uma pequena propriedade do Município de Santo Antônio do Tauá, Pará. Cas = Castellonis, Cop = Copenhageni, Po = Pomona, Aus = Australis, Ict = Icterohaemorrhagiae, Py = Pyrogenes.

A estratificação etária das amostras provenientes da Criação D possibilitou representar a frequência de sororreagentes em função da idade dos animais examinados (Figura 13) sobre o que algumas considerações podem ser feitas:

1. Os títulos positivos foram detectados aos três meses de vida em 9,09% (3/33) dos suínos amostrados. Em um leitão dessa idade foi detectada infecção mista pelos sorovares Castellonis, Copenhageni e Pomona (com títulos 800, 1600 e 100, respectivamente);
2. Entre os animais com quatro meses a frequência de sororreagentes foi maior, correspondendo a 12,12 % (4/33) das amostras, sendo identificado outro caso de infecção mista, dessa vez pelos sorovares Castelloni, Australis, Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes (com títulos 400, 800, 200 e 100, respectivamente);
3. Na faixa dos cinco meses de idade o percentual de resultados positivos foi menor que nas demais, atingindo o valor de 6,06% (2/33);
4. Diferença estatística significativa não foi encontrada entre nenhum dos valores mencionados.

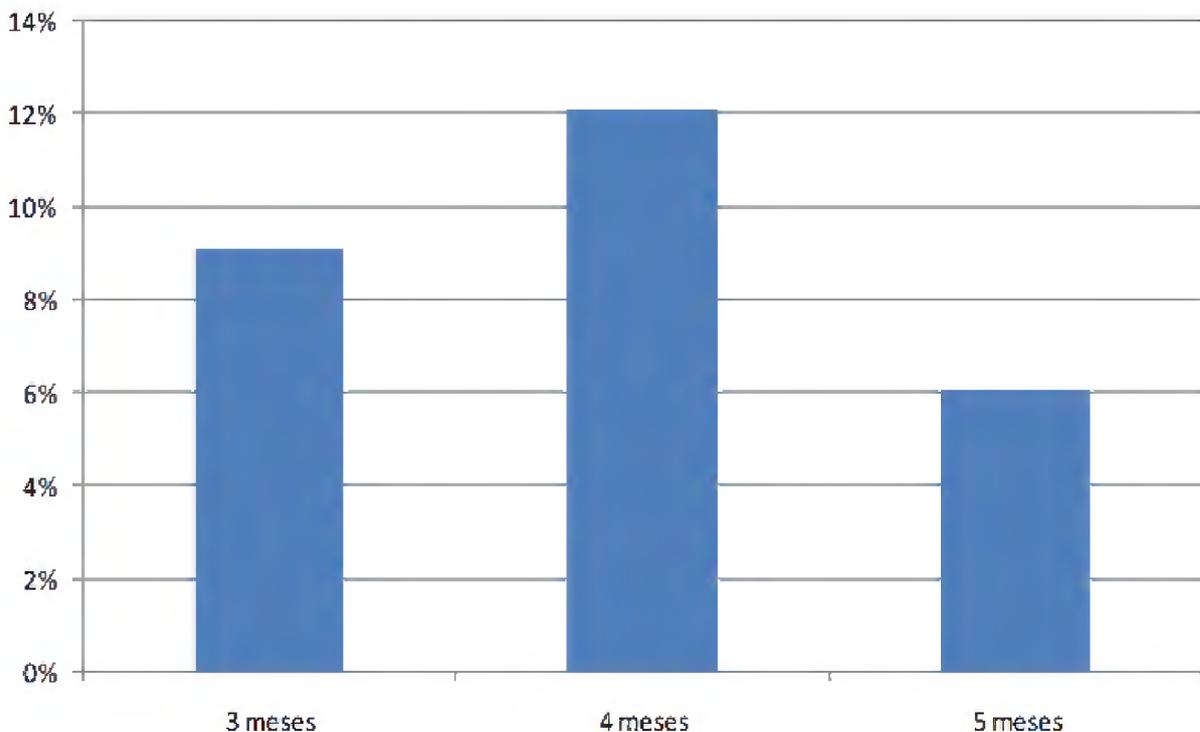


Figura 13 – Frequência de suínos sororreagentes contra *Leptospira* sp. em uma propriedade localizada no Município de Santo Antônio do Tauá (PA) em função da idade dos animais.

5.8 Fatores de risco associados com a infecção por *Toxoplasma gondii* e por *Neospora caninum* em suínos criados no Estado do Pará

Dentre as variáveis possivelmente relacionadas com a infecção por *T. gondii* em suínos, somente a entrada de gatos nas instalações foi estatisticamente significativa, aparecendo como fator de proteção, em vez de risco, o que se deve ao Odds Ratio (OR) possuir valor menor que um (Tabela 14).

Em relação à infecção por *N. Caninum*, apareceram como fatores de proteção o uso de baias com paredes de alvenaria, a criação em sistema de confinamento, o uso de bebedouros tipo chupeta em vez de cocho e a criação concomitante de ruminantes e de aves domésticas. Os fatores de risco identificados foram o despejo de efluentes no solo, a alimentação com restos de açougue e o emprego de mão-de-obra familiar (Tabela 14).

Tabela 14 - Variáveis identificadas como fatores de risco ou de proteção para infecção por *T. gondii* e por *N. caninum* em suínos criados das Mesorregiões Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense (método de Mantel_Haenszel).

T. gondii				
	χ^2	P-valor	OR	IC95%
Gatos entram nas instalações	4.9745	0.0257	0.0945	0.0111- 0.8054
N. caninum				
	χ^2	P-valor	OR	IC95%
Paredes de alvenaria	11.1949	0.0008	0.0955	0.0232- 0.3926
Despeja efluentes no solo	4.2377	0.0395	5.4762	1.2459- 24.0698
Alimenta com restos de açougue	6.4517	0.0111	7.9130	1.5827- 39.5623
Criação em sistema de confinamento	16.2846	< 0.0001	0.0478	0.2667- 0.2667
Mão-de-obra familiar	11.1949	0.0008	10.4688	2.5474- 43.0224
Uso de bebedouros tipo chupeta em vez de cocho	11.1949	0.0008	0.0955	0.0232- 0.3926
Criação concomitante de ruminantes	10.1311	0.0015	0.1032	0.0251- 0.4246
Criação concomitante de aves domésticas	11.1949	0.0008	0.0955	0.0232- 0.3926

6 DISCUSSÃO

6.1 *Toxoplasma gondii*

O resultados da infecção por *T. gondii* (6,77%) foram superiores aos encontrados por Carletti et al. (2005) em suínos de terminação no Paraná (2,60%) e por Pezerico et al. (2007) em suínos abatidos em São Paulo e Minas Gerais (0%), estados onde a prevalência vem decaindo em razão da maior tecnificação e de melhorias no manejo higiênico-sanitárias adotadas nos últimos anos, a exemplo do que ocorre nos Estados Unidos, onde a prevalência em leitões de abate passou de 23%, em 1984, para 3,1% em 1992, após o emprego dessas medidas (DUBEY; JONES, 2008).

Por outro lado, a frequência da infecção foi inferior à verificada em animais de abate nos estados de Pernambuco (12,46%) por Cavalcanti (2011), na Paraíba (36,2%) por Azevedo et al. (2010), na Bahia (18,27%) por Bezerra et al. (2009) e em Goiás (16,3%) por Barthasson (2005). Isto pode ser devido o presente estudo ter investigado animais de diferentes faixas etárias, incluindo leitões em fase de recria, nos quais a prevalência costuma ser menor que naqueles da terminação (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2010a).

Muito embora as taxas de infecção possam variar em animais de terminação e de abate, no plantel de reprodução são geralmente altas, como foi verificado em Alagoas (26,9%) por Valença et al. (2011) e no Paraná (15,35%) por Tsuitsui et al. (2003), o que se deve ao maior tempo de exposição ao agente (VIDOTTO et al., 1990; CARLETTI et al., 2005). Diante disto, e considerando que a transmissão via transaplacentária é pouco comum em suínos (SOLAYMANI-MOHAMMADI; PETRI JR., 2006), no presente estudo, a maior frequência de sororreagentes em lactentes (<1 mês de vida) do que nos leitões da terminação pode ser atribuída à presença de anticorpos colostrais. Essa suposição é reforçada por García-Bocanegra et al. (2010a), que verificaram uma soroprevalência significativamente elevada em animais de 1 a 3 semanas de vida nascidos de matrizes soropositivas.

Em leitões nascidos de matrizes com baixos títulos de anticorpos, a persistência de anticorpos colostrais é curta, encerrando tão logo ocorra a desmama (SOLAYMANI-MOHAMMADI; PETRI JR., 2006). De fato, as criações onde haviam sororreagentes com idade inferior a 1 mês de vida praticavam desmama em torno de 30 dias após o nascimento e não apresentaram animais soropositivos com idade superior a esta.

Em leitões desmamados a soroconversão só foi verificada aos 5 e 6 meses de idade, não havendo sororreagentes no intervalo entre 1 a 4 meses, o que pode ser compreendido a

partir de Vidotto et al. (1990), segundo os quais a taxa de infecção é influenciada pelo tempo de permanência na propriedade, fazendo com que a frequência de sororreagentes na terminação seja maior do que na recria devido ser a etapa na qual há maior risco de transmissão horizontal para os leitões (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2010a).

A infecção pelo *T. gondii* está bem distribuída na área de estudo, tendo sido verificada em 6 dos 7 municípios investigados (85,71%). As menores frequências ocorreram nos animais oriundos de Belém (3,23%), cujas amostras foram colhidas durante o abate, e benevides (3,85%), procedente de uma granja tecnificada. A maior frequência (18,18%) foi observada em suínos criados de maneira rústica no Município de Igarapé-miri. Estes resultados estão de acordo com García-Bocanegra (2010b), que verificaram uma grande variação da prevalência entre as criações, sendo que os maiores números de casos positivos tendem a ocorrer nas criações rústicas, onde existe maior exposição dos animais aos oocistos presentes no solo e água (BEZERRA et al., 2009).

Bezerra et al. (2009) encontraram valores de ocorrência mais altos em suínos abatidos clandestinamente, oriundos de granjas rústicas, do que nos abatidos em Sistema de Inspeção Federal (SIF), oriundos de granjas comerciais. De forma semelhante Hove; Lind; Mukaratirwa (2005), encontraram, no Zimbabue, elevada soroprevalência em suínos abatidos em um frigorífico não especializado, utilizado por pequenos criadores que adotam o sistema extensivo, comparativamente a frigoríficos com alto padrão de higiene e serviço de inspeção sanitária, que abatem suínos criados intensivamente.

Estes achados são condizentes com os resultados apresentados nesta monografia, onde a taxa de infecção observada em amostras provenientes de abate clandestinos foi 2,3 vezes maior que nas oriundas de abate inspecionado, ao mesmo tempo em que foi maior nos animais da Mesorregião do Marajó (21,74%), criados extensivamente (LUDOVINO; TOURRAND; VEIGA, 2000) e abatidos em estabelecimentos clandestinamente. Frequência próxima a esta (19,1%) foi encontrada por Barthasson (2005) em soros de suínos de criados extensivamente no Estado de Goiás.

Logo, concorda-se com Bezerra et al. (2009) e Hove; Lind; Mukaratirwa (2005) que os abatedouros com baixo padrão higiênico e sanitário são pouco seletivos quanto à procedência dos animais recebidos para o abate, os quais geralmente provém de criações rústicas, ou de fundo de quintal, onde, por conta do sistema de manejo adotado, é alto o nível de infecção por *T. gondii*, de forma que a carne proveniente destes locais oferece maiores riscos para a saúde pública.

No presente trabalho, a frequência de infecção em animais de abate sem inspeção sanitária (14,55%) foi menor que a encontrada por Freitas et al. (2009) em estabelecimentos clandestinos de Belém (50%) através da IHA com ponto de corte 1:16. Apesar desta prova apresentar baixa especificidade (SUARÉZ-ARANDA et al., 2000) e ser discordante em relação à RIFI, especialmente nas menores diluições (D'ANGELINO; ISHISUKA, 1986), os resultados obtidos por esses autores confirmam que os animais recebidos nesses estabelecimentos provêm de criações onde o sistema de manejo propicia taxas de infecção consideravelmente elevadas (PAȘTIU et al., 2013; BALEA et al. 2012; CAVALCANTE et al., 2006).

Os títulos observados nas amostras procedentes de criações demonstram uma tendência de aumento até a idade de 5 meses, concordando com D'angelino; Ishisuka (1986), que verificaram que os títulos aumentam com o passar do tempo, o que pode ser constatado também no presente trabalho pela comparação da titulação máxima entre animais de criação (2048) e de abate (4096). Este último também foi observado por Schenk (1976) em suínos entre 6 e 12 meses de idade.

A frequência do título 64 foi similar nos soros de suínos de criação e de abate, contrariando os achados de D'angelino; Ishisuka (1986) e Schenk (1976), que registraram menor frequência do mesmo em animais com idade igual ou superior a seis meses. Por outro lado, Millar et al. (2008b) e Hove; Lind; Mukaratirwa (2005) constataram que títulos baixos (igual a 64 ou inferiores a 100) foram os mais frequentes em leitões em idade de abate. Em suínos adultos, títulos baixos são devidos à diminuição da concentração de anticorpos específicos anti-T. gondii na infecção crônica, o que, no entanto, somente ocorre passados, pelo menos, dois anos do início da infecção (DAMRIYASA et al., 2004). Assim, no presente trabalho, a ocorrência de títulos baixos em animais de abate pode estar relacionada à desmama natural praticada nas criações extensivas e ultra-extensivas, que acontece entre os 3 e 5 meses de idade dos leitões (CAVALCANTI, 1984), de forma que parte desses animais adquirem a infecção tardiamente.

Dados de D'angelino; Ishisuka (1986) revelam que a frequência do título 256 aumenta a partir dos 4 meses de idade, explicando por quê, no presente estudo, foi mais elevada em animais de abate do que nos de criação.

Assim como no trabalho de Azevedo et al. (2010), os presentes resultados apontam o título 512 como o mais comum, tanto em animais de abate quanto de criação. Compreende-se que isto resulta de ser este um valor intermediário entre os títulos baixos e transitórios da

infecção aguda e os títulos elevados e tardios da infecção crônica (D'ANGELINO; ISHISUKA, 1986), portanto, mais provável em animais na fase de terminação e abate.

Dentre as variáveis investigadas para associação com a ocorrência de anti-corpos anti-*T. gondii* em suínos, somente a entrada de gatos nas instalações foi estatisticamente significativa ($p = 0.0257$), cujo Odds Ratio (OR = 0.0945) aparece como fator de proteção, indicando que a presença de gatos nas instalações reduz em 90% o risco de infecção.

Embora os gatos possam atuar como agentes dispersores de *T. gondii* no ambiente, favorecendo a infecção nos suínos (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2010a), Dubey et al. (1995b) verificaram que apenas 1,8% dos gatos adultos eliminam oocistos nas fezes, isto porque costumam se infectar ainda jovens, realizando a eliminação de oocistos apenas na primeira semana após a infecção, razão pela qual a sua presença na propriedade ou mesmo no interior das instalações nem sempre constitui risco de infecção para os suínos, conforme constataram Damriyasa et al. (2004) e Valença et al. (2011). No entanto, se desconhecem relatos de gatos atuando como fatores de proteção contra a infecção pelo *T. gondii*.

O papel protetor do gato, neste caso, pode estar relacionado com a predação de roedores infectados que, segundo Kijlstra et al. (2004) transmitem o parasito ao serem ingeridos pelos suínos, constituindo fonte de transmissão mais importante que os gatos porque conseguem manter a infecção ao longo de várias gerações através da transmissão vertical. A importância de ratos e camundongos para a transmissão do *T. gondii* aos suínos foi avaliado por Tsuitsui et al. (2003), que verificaram correlação positiva entre o acesso de roedores ao cocho de ração e a infecção em suínos. Dubey et al. (1995b) complementam que mais de metade dos roedores de granjas suínas pode apresentar a infecção.

No presente trabalho foi observado que 75% das criações positivas para *T. gondii* não realizava controle estratégico de roedores e, em substituição a isso, utilizavam gatos para o controle biológico dos ratos, o que está de acordo com Bocanegra; Remujo; Merced (2011), segundo os quais as maiores soroprevalências para *T. gondii* são encontradas em criações sem programas específicos de controle de roedores e com Kijlstra et al. (2004), que constatou presença regular de gatos em criações não-tecnificadas, onde servem ao objetivo de controlar a população de roedores.

6. 2 *Neospora caninum*

A frequência da infecção por *N. caninum* (5,16%) foi superior à encontrada por Damriyasa et al. (2004) em 2041 matrizes de ganjas suínas especializadas da Alemanha

(3,3%), por Bártová; Sedlák (2011) em 551 suínos com 6 a 8 meses de idade da República Tcheca (1,5%) e, no Brasil, por Azevedo et al. (2010) em 130 suínos criados em sistema de confinamento na Paraíba (3,1%).

Contudo, os resultados deste estudo foram inferiores aos registrados por Helmick et al. (2002) em 545 matrizes suínas da Grã-Bretanha (8,8%), por Bártová; Sedlák; Literák (2006) em 565 javalis selvagens da República Tcheca (18,1%), por Kamga-Waladjo et al. (2009) em 60 matrizes criadas extensivamente do Senegal (58,3%) e, no Brasil, por Almeida (2004) em 106 suínos criados extensivamente no Estado da Bahia (7,5%).

Verifica-se, assim, que as menores taxas de infecção por *N. caninum* acontecem em criações que utilizam o sistema intensivo de criação, enquanto que em suídeos de vida livre ou criados de forma extensiva ou semi-extensiva a ocorrência da infecção é menor. No presente estudo foram analisadas amostras de suínos criados em diferentes sistemas de criação, podendo-se atribuir a isto ocorrência relativamente moderada da infecção em comparação com os resultados acima citados.

Variações ao nível regional foram observadas, registrando ocorrências de 3,06% na Mesorregião Nordeste Paraense, 8,62% na Metropolitana de Belém e 17,29% na Mesorregião do Marajó. Bártová; Sedlák (2011) também identificaram variações em 8 distritos da República Tcheca, com a soropositividade variando de 0% a 20%.

O percentual encontrado na Mesorregião Nordeste Paraense (3,06%), onde é mais difundida a criação em sistema intensivo, foi semelhante ao registrado por Azevedo et al. (2010) em suínos procedentes de criações intensivas do Estado da Paraíba (3,1%). Na Mesorregião Metropolitana de Belém registrou-se ocorrência de 8,62% sororreagentes, observada em uma propriedade onde se praticava a criação semi-intensiva, valor similar ao relatado por Almeida (2004) em suínos criados extensivamente na Bahia (7,5%). Já na Mesorregião do Marajó, onde, segundo Ludovino; Tourrand; Veiga (2000), os suínos são criados extensivamente, foi observada soropositividade de 17,29%, próximo à de javalis de vida livre da República Tcheca (18,1%) (BÁRTOVA; SEDLÁK; LITERÁK, 2006).

O percentual de sororreagentes encontrados em uma criação semi-extensiva da enquanto que em soropositivos criados em sistema extensivo na Mesorregião do Marajó o que caracteriza uma relação direta entre o animal e a exposição a fontes de contaminação presentes no ambiente.

Este foi o primeiro trabalho a estudar a ocorrência de *N. caninum* em leitões de diferentes idades. Títulos de anticorpos acima do ponto de corte 1:64 foram identificados em 11,11% dos animais em lactação (idade inferior a 1 mês de vida) com valores 64 e 128. Entre

os animais desmamados, a soropositividade somente foi observada a partir dos 3 meses de vida, no qual os títulos variaram entre 64 e 512, permanecendo baixos (64) nos meses seguintes. Esse padrão se assemelha ao da infecção pelo *T. gondii*, na qual leitões sororreagentes da maternidade apresentam queda nos títulos de anticorpos após o desmame, vindo a desenvolver soroconversão somente ao entrarem na fase de terminação, onde o contato com alimentos e água contaminados é maior (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2010a).

Nos soros obtidos em criações, os títulos de anticorpos anti-*N. caninum* apresentaram queda no 6º mês de vida, atingindo a titulação mínima de 64. Da mesma forma, títulos baixos de anticorpos foram verificados nas amostras procedentes de abate. Assim, parentemente, ocorre declínio da concentração de anticorpos anti-*N. caninum* na infecção crônica. Dessa forma, a menor frequência de suínos soropositivos no abate (3,31%) em comparação com as criações (5,56%) parece resultar da queda da imunidade específica que ocorre em animais mais velhos, segundo observaram Kamga-Waladjo et al. (2009).

Dentre as variáveis analisadas no questionário epidemiológico, mostraram-se como fatores de risco para a infecção por *N. caninum* o despejo de efluentes no solo, o uso de mão-de-obra familiar e a alimentação com restos de açougue devido ao valor dos seus Odds Ratios igual a 5.4762, 10.4688 e 7.9130, respectivamente.

O despejo de efluentes no solo e o uso de mão-de-obra familiar foram verificados em criações não-tecnificadas e estão vinculados à ausência de cuidados higiênicos apropriados, o que favorece a entrada de agentes infecciosos nas instalações dos suínos indiretamente, através de pessoas, água, alimentos, equipamentos e outros animais que tiveram contato com as fontes de contaminação (DIAS, 2011). Os riscos relativos da higiene inadequada e da utilização de mão-de-obra familiar foram anteriormente apontados por Almeida (2004) em rebanhos de caprinos leiteiros, porém em valores inferiores (RR = 1,20 e 1,17, respectivamente) aos do presente trabalho, segundo os quais a chance de infecção aumenta 5,5 vezes em criações que despejam efluentes no solo e 10,5 vezes naquelas que utilizam mão-de-obra familiar.

Igualmente, a alimentação com restos de açougue foi verificada em criações rústicas, representando um risco 8 vezes maior de infecção pelo *N. caninum* em suínos, o que pode decorrer da carne bovina contaminada constituir um meio altamente eficiente de transmissão, conforme relataram Gondim; Gao; McAllister (2002) e Da Silva (2010) em cães alimentados com carne crua de bovinos.

As variáveis baias com paredes de alvenaria (OR = 0.0955), criação em sistema de confinamento (OR = 0.0478), uso de bebedouros tipo chupeta em vez de cocho (OR =

0.0955), criação concomitante de ruminantes (OR = 0.1032) e criação concomitante de aves domésticas (OR = 0.0955) aparecem como fatores de proteção contra a infecção por *N. caninum* em suínos.

Os resultados apontam que tanto a presença de paredes de alvenaria quanto a criação em confinamento e o uso de bebedouros tipo chupeta proporcionam uma redução acentuada (> 90%) do risco de infecção. Pode-se atribuir este efeito protetor à redução do contato dos suínos com o solo ou água contaminados. É possível, de outro modo, considerar que a ausência destas variáveis aumenta consideravelmente o risco de infecção por *N. caninum* para os suínos, como foi constatado por Kama-Waladjo et al. (2009), que encontraram 58,3% de sororreagentes entre 60 matrizes errantes do Zimbábue, cujos hábitos alimentares eram depravados e que bebiam de fontes de água parada.

A criação concomitante de ruminantes e de aves domésticas apareceu como um fator de proteção altamente eficiente, podendo ser atribuído ao fato de atuarem como hospedeiros intermediários do *N. caninum* (DUBEY; LINDSAY, 2006; COSTA, 2008). Dessa forma, durante o pastejo, ingerem oocistos infectantes presentes no solo, contribuindo para a redução da população parasitária existente nesse substrato (ALBUQUERQUE et al., 2011),

6.3 *Brucella abortus*

A frequência da infecção por *B. abortus* no presente trabalho foi de 1,61%, superior à encontrada por Matos et al. (2004) em Goiânia (0,12%), por Aguiar et al. (2006) em Rondônia (0,9%) e por Azevedo et al. (2012) na Paraíba (0,98%) e inferior à encontrada por Rosa; Garcia; Megid (2012) em São Paulo (3%). Esses resultados reafirmam que a frequência de infecção geralmente é baixa da infecção em regiões suinícolas do Brasil, assim como em alguns lugares do mundo; na Grécia, Burriel et al. (2003) registrou 3% e, na Índia, Rahman et al. (2012) observaram 4,8%. Segundo Olsen (2013), a infecção brucélica em suínos apresenta baixa ocorrência no mundo inteiro.

Deve-se ressaltar que a baixa prevalência de infecção brucélica em suínos de granjas tecnificadas se deve ao manejo higiênico-sanitário satisfatório, como as existentes nos Estados do Paraná e Santa Catarina, com a taxa de infecção chegando a 0% (LIMA et al., 2010). Nesse tipo de propriedade a introdução de *B. abortus* é mais provável pela aquisição de reprodutores infectados, diferindo das pequenas criações com manejo inadequado e acesso a pasto, onde pode ocorrer por contato direto e indireto com animais infectados, incluindo

suídeos selvagens, portadores tanto de *B. suis* (ŠPIČIĆ et al., 2010) quanto de *B. abortus* (STOFFREGEN et al., 2007).

Convém ressaltar que estas condições se assemelham às encontradas na maior parte das criações de suínos do Estado do Pará, constituídas por pequenas propriedades que praticam o sistema de criação extensivo (COSTA, 2009), o qual é mais difundido na Mesorregião do Marajó (LUDOVINO; TOURRAND; VEIGA, 2000), que contribuiu com 80% (4/5) dos casos positivos encontrados no presente trabalho, tendo-se identificado anticorpos anti- *B. abortus* em 17,39% dos leitões procedentes desta mesorregião.

Neste sentido, portanto, verifica-se um considerável percentual de soropositividade para anticorpos anti-*B. abortus* em suínos abatidos clandestinamente no Estado do Pará, corroborado pelo estudo de Freitas et al. (2001), que registraram 42,2% de sororreagentes, bem superior ao 7,27% observado no presente trabalho. Esta variação é possível graças a diferenças na idade, no histórico reprodutivo (em caso de fêmeas) (RAHMAN et al., 2012) e na procedência dos animais (ROSA; GARCIA; MEGID, 2012).

A ocorrência de casos na Mesorregiões Metropolitana de Belém foi nula (0,0%) e na Nordeste Paraense foi de 0,44%, substancialmente inferior à do Marajó (17,39%), o que se deve à adoção, em maior escala, de sistemas de confinamento, aliada à circulação relativamente baixa de *B. abortus* em outras espécies domésticas da mesma área que poderiam atuar como eventuais fontes de infecção para suínos (COSTA; REZENDE; LINS 1969/1970; PAZ; FREITAS et al., 2006; MORAES, 2011), concordando com o que foi observado por Cadmus et al. (2006), na Nigéria, que encontrou ausência de infecção brucélica em 200 suínos de uma área com baixa prevalência da infecção em bovinos e caprinos.

Embora o teste do Antígeno Acidificado Tamponado - AAT seja raramente empregado para o diagnóstico da infecção brucélica em leitões jovens, esta medida pode ser útil para evidenciar a contaminação a partir de fontes alimentares (JESUS et al., 2010). No presente estudo, ausência de sororreagentes nas diferentes fases da criação que, em algumas propriedades, são regularmente alimentados com restos de açogue, reafirma a pouca relevância da transmissão horizontal a partir de outras espécies nas Mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém.

Na Mesorregião do Marajó, bovinos e bubalinos são espécies que poderiam contribuir para a transmissão de *B. abortus* aos suínos. Contudo, na Ilha do Marajó a taxa de infecção brucélica nesses ruminantes é pouco acentuada (LÁU; SING, 1985; FREITAS et al., 2006) e inferior à dos suínos, de acordo com os resultados do presente estudo, o que ressalta a importância desta espécie como risco ocupacional para a ocorrência de brucelose humana no

Estado do Pará (FREITAS et al., 2001). Ao mesmo tempo, evidencia-se a necessidade de investigações mais abrangentes sobre o ciclo epidemiológico da *B. abortus* nos animais criados de modo extensivo na Mesorregião do Marajó.

6.4 *Leptospira* sp.

No presente trabalho foi identificada uma ocorrência de 4,84% de infecção por *Leptospira* sp. em suínos do Estado do Pará, resultado inferior aos relatados nos Estados de Pernambuco (25,57%) (CAVALCANTI, 2011), Paraná (39%) (HASHIMOTO et al., 2010) Minas Gerais (44,4%) (OSAVA et al., 2010), Alagoas (16,1%) (VALENÇA, 2009), Paraíba (33,6%) (AZEVEDO et al., 2008), Rondônia (32,9%) (AGUIAR et al., 2006) e São Paulo (16,5%) (AZEVEDO et al., 2006).

Em parte, isto pode ser devido à idade de abate dos animais utilizados neste estudo, que nas criações do Estado do Pará é diferente da adotada em sistemas tecnificados de outros estados (COSTA, 2009), sendo caracteristicamente mais tardia (em torno de 6 a 8 meses de vida), ocasionando, assim, maior participação de portadores crônicos com concentrações de anticorpos inferiores às detectáveis pela SAM, o que é sugerido pela baixa titulação de anticorpos encontrada entre os sororreagentes, indicando uma resposta humoral fraca ou declinante, comum na fase tardia da infecção por *Leptospira* sp. (AZEVEDO et al., 2006).

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram obtidos por Campos et al. (2011), que observaram frequência de 4,7% de sororreagentes entre 150 suínos de criação extensiva e intensiva abatidos nos Estados do Maranhão e Piauí.

Entretanto, os resultados diferem notavelmente daqueles obtidos por Ramos (2007) em 6 municípios de Estado do Pará, que encontrou soropositividade de 75,7% (44/111) entre matrizes e reprodutores que, por serem animais com período de vida longo, ficam mais expostos ao contato com leptospiros (DELBEM et al., 2004), apresentando taxas de infecção maiores que animais em idade de abate ou inferior (JUNG et al., 2009), justificando, assim, discrepâncias observadas nas taxas de infecção entre plantéis de reprodução e de abate provenientes de uma mesma área (PEREIRA et al., 2009; OLIVEIRA FILHO et al., 2012).

Em consequência disto, a variedade de sorovares encontradas por Ramos (2007) em reprodutores suínos de municípios das Mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém (*Icterohamorrhagiae*, *Bataviae*, *Hardjo*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Grippotyphosa*, *Panama*, *Shermani*, *Australis*, *Bratslavia*, *Hebdomadis*, *Whitcombi*, *Pyrogenes*, *Copenhageni* e

Canicola) foi superior à do presente estudo (Castelloni, Copenhageni, Pomona, Australis, Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes).

A ausência de animais positivos para *Leptospira* sp. na Mesorregião do Marajó surpreende pelo fato das condições climáticas, de manejo e de criação ali existentes favorecerem esse tipo de infecção, já que esses animais são criados de forma extensiva (LUDOVINO; TOURRAND; VEIGA, 2000), compartilhando dos mesmos terrenos alagadiços aos quais está adaptado o búfalo, que, segundo Brasil (1986), apresentam, juntamente com os caprinos, elevada taxa de infecção (42,9% e 30%, respectivamente), já verificada também nos equinos (41,18%) por Rocha et al. (2012).

Azevedo et al. (2006) explicam que a SAM possui limitações para o diagnóstico em animais cronicamente infectados porque alguns deles podem apresentar títulos de anticorpos abaixo do valor geralmente aceito como mínimo (i.e., 100). Isto decorre da persistência das leptospiros em sítios imunologicamente protegidos, como os túbulos renais proximais, câmara anterior do olho e trato genital após a fase aguda da infecção (GENOVEZ, 2009), resultando em falta de estímulo imunogênico ao longo de vários meses e, assim, em títulos baixos de anticorpos circulantes (BOQVIST, 2002).

Esses dados suportam que os suínos da Mesorregião do Marajó, embora criados com manejo sanitário deficiente e em área endêmica para *Leptospira* sp., podem não oferecer títulos detectáveis na SAM em razão da idade de abate, próxima ou superior a 6 meses de vida, portanto, com maiores chances de estarem cronicamente infectados.

Na população estudada, o sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi o mais frequente, correspondendo a 2,62% dos casos de infecção por *Leptospira* sp.. Os resultados deste trabalho, em conjunto com os de Ramos (2007), sugerem que este sorovar está bem distribuído em criações de suínos das Mesorregiões Nordeste Paraense e Metropolitana de Belém, tendo sido identificado nos Municípios de Belém, Ananindeua, Marituba, Santa Bárbara, Santa Izabel do Pará, Bujaru, Castanhal, Santo Antônio do Tauá e Irituia.

As infecções associadas ao sorovar *Pomona* foram 50% inferiores às causadas pelo *Icterohaemorrhagiae*, sendo o segundo mais comum na população estudada. Porém, sua abrangência parece restrita, pois foi encontrado somente em um dos sete municípios investigados (Santo Antônio do Tauá), complementando os achados de Ramos (2007), que não identificou esse sorovar em outros municípios na mesma área de estudo.

Assim, os resultados do presente estudo estão de acordo com o que tem sido observado em outras regiões do Brasil, onde, segundo Oliveira; Lima (1996), os sorovar

Icterohaemorrhagiae vem se tornando mais predominante em relação ao Pomona que, até a década 1990, era mais o mais comum em suínos criados no país.

Isso pode ser constatado no estudo retrospectivo de Favero et al. (2002) sobre 8.568 soros suínos examinados pela SAM entre os anos de 1987 a 1997, nos quais verificam o predomínio do sorovar Pomona no Rio Grande do Sul (100%), do sorovar Icterohaemorrhagiae no Paraná (66,6%), em Goiânia (66,6%) e em Santa Catarina (62,5%) e de ambos os sorovares no Estados do Rio de Janeiro (33,3%) e Pernambuco (47%). Os autores consideram a aparente substituição do sorovar Pomona pelo Icterohaemorrhagiae uma consequência da evolução da suinocultura nacional.

Porém, essa justificativa não se aplica à suinocultura desenvolvida no Estado do Pará, que ainda encontra-se em estágio inicial de desenvolvimento, existindo poucas propriedades que se enquadram na categoria de suinocultura comercial, enquanto que a maioria apresenta pequena produtividade e adota o sistema tradicional de criação (COSTA, 2009).

Neste sentido, Boqvist (2002) considera que a predominância dos sorovares Icterohaemorrhagiae e Pomona em pequenas propriedades está relacionada ao sistema de manejo que, diferente do que ocorre nas criações de grande porte, permite maior contato com o ambiente externo e com carreadores domésticos da infecção e, em relação ao sorovar Pomona, os próprios suínos constituem o principal reservatório (MILLER et al., 1990), e para Icterohaemorrhagiae o rato marron (*Rattus norvegicus*) a mais importante fonte de infecção (THIERMAN, 1981).

A infecção pelo sorovar Icterohaemorrhagiae no presente estudo foi menos expressiva que nos estados anteriormente citados, possivelmente pela reduzida taxa de dispersão das ratazanas no meio rural (VILLAFANE; MUSCHETTO; BUSCH, 2008) e pela presença de predadores naturais nessas áreas. Esta argumentação coincide com a baixa frequência deste sorovar em outras espécies domésticas criadas na Mesorregião Nordeste Paraense (MORAES et al., 2012; DOS SANTOS, 2007).

Na única criação positiva para *Leptospira* sp. (Propriedade D), o sorovar Icterohaemorrhagiae foi um dos menos frequentes (2/33). Os poucos títulos encontrados resultaram de animais com 4 meses de vida e foram baixos (1:100 e 1:200). Leitões de idades inferiores (<1, 2 e 3 meses) não foram reagentes, o que exclui a interferência de anticorpos maternos anti-*Leptospira* sp. que, quando presentes, podem ser detectados em mais de 75% da população com 0 a 4 semanas de vida, decaindo gradualmente entre a 4ª e a 10ª semanas de vida (MILLAR, 1987; BOLT, 1990). Segundo Azevedo et al. (2006), segundo os quais a associação entre a baixa frequência e os títulos fracos para este sorovar podem ser

interpretados como indicativo da introdução recente no rebanho através do ambiente contaminado com urina de *R. norvegicus*.

Isto condiz com os achados de Ramos (2007), que encontrou 16,38% de reprodutores sororreagentes ao sorovar *Icterohaemorrhagiae* no Estado do Pará, o que corresponde a dizer que 83,62% das leitegadas produzidas no estado não recebem a imunização passiva contra esse agente através do leite materno. Assim, possivelmente adquirem a infecção após a desmama, quando entram em contato com alimentos e água contaminadas com urina de rato, o que, no entanto, é pouco frequente, haja vista a baixa taxa de infecção por este sorovar verificada pela presente pesquisa em leitões de criação (3,97%) e de abate (3,31%).

O sorovares *Copenhageni* e *Castellonis* também foram encontrados por Aguiar et al. (2006), em Rondônia, e por Cavalcanti (2011), em Pernambuco, na frequência de 17,94%, e 17,3%, respectivamente. No Estado do Pará, Ramos (2007) identificou uma taxa de infecção de 5,41% pelo sorovar *Copenhageni* em suínos. Todos os casos foram registrados em propriedades sem histórico de vacinação e com baixo nível tecnológico.

No presente estudo, a taxa de infecção pelo sorovar *Copenhageni* foi de 0,98% e pelo *Castellonis*, de 2,62%. Em relação ao único município com amostras positivas para esses sorovares, Santo Antônio do Tauá, a frequência foi de 9,09%, igualmente para ambos. A idade mínima dos animais sororreagentes para estes sorovares foi 3 meses de vida, período no qual, de acordo com Bold (1990), ocorre, nos leitões, declínio da imunidade adquirida através do leite materno, simultâneo ao início da soroconversão, nos infectados, dificultando, neste caso, o discernimento quanto à origem dos anticorpos identificados. Contudo, a ausência de sororreagentes entre os lactentes investigados, associada aos altos títulos encontrados (1600 para *Copenhageni* e 800 para *Castellonis*), sugere que não há participação de anticorpos colostrais, cujos títulos são baixos nesta fase (BOLD, 1990). Da mesma forma, na soroconversão inicial, os títulos de anticorpos anti-*Leptospira* sp. costumam ter valores pouco expressivos, exceto na infecção por sorovares fortemente imunogênicos, como *Copenhageni* (JOST, 1989), indicando, portanto, se tratarem os resultados aqui discutidos de infecção recente adquirida a partir de fontes presentes no ambiente.

Com relação a isso, cabe destacar que os sorovares *Copenhageni* e *Castellonis* têm nos roedores sinantrópicos o seu principal reservatório (AGUIAR et al., 2006; CAVALCANTI, 2011), estando a infecção por estes agentes condicionada ao controle ineficiente desse animais. Assim, os resultados do presente trabalho, apontam expressiva participação de roedores sinantrópicos no ciclo epidemiológico da *Leptospira* sp. em criatórios suínos de pequeno porte, representando ameaça permanente à saúde animal e humana, uma vez que

ratos que vivem junto a rebanhos dispõem de melhor condição corporal, produzem maiores ninhadas e apresentam maior potencial reprodutivo que os residentes em favelas urbanas (VILLEFAÑE et al., 2012).

A frequência da infecção pelo sorovar Australis no Município de Santo Antônio do Tauá (3,03%) é próxima da encontrada por Ramos (2007) em outros municípios do Estado do Pará (4,4%) e por Aguiar et al. (2006) em pequenas propriedades familiares do Município de Monte Negro, em Rondônia, (3,4%). A ocorrência deste sorovar costuma-se acompanhar de baixa taxa de infecção e abrange criações com qualquer perfil tecnológico (VALENÇA, 2009), o que decorre de a fonte de transmissão originar-se fora da propriedade, pois é carregado pelo rato d'água, uma espécie silvestre do gênero *Nectomys* sp. (CORDEIRO; SULZER; RAMOS, 1981).

Este roedor está amplamente distribuído no Brasil e possui hábitos semi-aquáticos, habitando as margens de córregos, rios e áreas inundadas (GENTILE; COSTA NETO; D'ANDREA, 2010). Desta feita, a ocorrência do sorovar Australis em criatórios suínos do Estado do Pará pode estar relacionada com a proximidade de fragmentos de floresta, onde a disponibilidade de alimentos é maior nos estratos mais baixos da vegetação, atraindo uma relativa abundância de mamíferos silvestres (marsupiais, capivaras, furões, pequenos roedores, cervídeos, gaxinins, quatis, macacos, dentre outros) cuja população tende a aumentar à medida que o número de predadores de topo é eliminado ou diminuído consideravelmente (FERNANDES, 2003) em razão, inclusive, da caça predatória, que constitui a mais importante fonte de proteína animal em pequenas comunidades afastadas do Estado do Pará (ALBUQUERQUE; ORIO, 2001). Todas essas espécies já foram identificadas carregando leptospiros de diferentes sorovares, inclusive *Icterohaemorrhagiae* e *Pomona* (OLIVEIRA; ARSKY; CALDAS, 2013).

A utilização de água retirada de leitões naturais para a higiene das instalações ou mesmo para o consumo dos animais é outra possível rota de transmissão do sorovar Australis. De qualquer forma, a infecção por este agente é uma consequência direta da atividade antrópica alterando a dinâmica populacional de vetores, hospedeiros e agentes infecciosos nos territórios antes dominados pela natureza (SANTOS, 2009).

O sorovar *Pyogenes* é considerado acidental em suínos. Foi encontrado na frequência de 3,85% em Pernambuco por Cavalcanti (2001) e de 2,3% na Paraíba por Azevedo et al. (2008). Em suínos do Estado do Pará, Uma baixa frequência foi encontrada no presente trabalho (0,33%) e no de Ramos (2007) (0,90%), ambos identificaram somente um soro positivo na titulação 100.

Exceto pelo *Icterohaemorrhagiae*, todos os sorovares discutidos foram identificados em apenas uma propriedade (Criação D), localizada no Município de Santo Antônio do Tauá, indicando que neste local os animais estão expostos a múltiplas fontes de infecção e sujeitos à infecção mista por diferentes sorovares, como foi constatado em dois animais desta propriedade, um dos quais apresentou co-infecção pelos sorovares *Castellonis*, *Copenhageni* e *Pomona*, e outro pelos sorovares *Castelloni*, *Australis*, *Icterohaemorrhagiae* e *Pyrogenes*.

A possibilidade de reação cruzada nestes dois casos, pode ser descartada uma vez que outros animais da mesma propriedade foram sororreagentes para *Icterohaemorrhagiae* e *Pomona* e, em relação ao sorovares *Copenhageni*, *Australis* e *Castelloni*, os títulos foram altos (1:400 a 1:1600), o que, de acordo com Boqvist (2009) não é característico de reação cruzada.

No entanto, concentração de casos positivos em apenas uma das oito criações visitadas, sugere que as fontes de infecção, embora presentes, não sejam abundantes nos municípios abrangidos pelo estudo, em parte pela frequente presença de gatos nesses locais, fazendo o controle da população de roedores, o qual pode também ser creditado à ação de outras espécies predatórias, dada a proximidade com o ambiente silvestre. Soma-se a isto os hábitos migratórios dos ratos que, nos ambientes com suficiente oferta de água e alimentos, realizam movimentos curtos de dispersão, agrupando-se em populações semi-isoladas e com baixa distribuição (VILLAFANE; MUSCHETTO; BUSCH, 2008).

7 CONCLUSÃO

A realização deste estudo possibilitou as seguintes conclusões:

- A infecção por *T. gondii*, *N. caninum* e *Leptospira* sp. está disseminada nas mesorregiões estudadas;
- A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii*, *N. caninum*, *B. abortus* e *Leptospira* sp. está presente tanto nos animais provenientes de criações quanto nos animais de abate com e sem inspeção sanitária;
- Suínos procedentes da Mesorregião do Marajó estão mais susceptíveis à infecção por *T. gondii* e *N. caninum* devido às condições de manejo adotadas na região;
- A presença de anticorpos contra *T. gondii* abrange criações de todos os municípios estudados, sendo considerados os roedores sinantrópicos como possíveis fontes de infecção;
- Em relação ao *N. caninum*, os resultados apontaram que condições precárias de manejo e de higiene favorecem a infecção de suínos;
- Os suínos apresentaram reações sorológicas para os sorovares de *Leptospira* sp., o que pode indicar a possibilidade de exposição a roedores sinantrópicos e silvestres.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; DIB, C.C.; VAILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; LARA, M.C.C.S.H.; RODRIGUEZ, C.AR.; VASCONCELOS, S.A.; MORAES, Z.M.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Anticorpos contra agentes bacterianos e virais em suínos de agricultura familiar do município de Monte Negro, RO. *Arq. Inst. Biol.*, v.73, n.4, p.415-419, 2006.
- ALBUQUERQUE, G.R.; MUNHOZ, A.D.; TEIXEIRA, M.; FLAUSINO, W.; MEDEIROS, S.M.; LOPES, C.W.G. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in dairy cattle, State of Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.*, v.31, n.4, p.287-290, 2011.
- ALBUQUERQUE, N.I.; ORIO, A.J.O. Diagnóstico para identificação de demandas de pesquisa no setor produtivo de suínos e aves no Estado do Pará. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2001.
- ALEXANDER, A.D. The Distribution of Leptospirosis in Latin America. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 23: 113-125, 1960.
- ALMEIDA, M.A.O.A. Epidemiologia de *Neospora caninum*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.13, Supl. 1, p.37-40, 2004.
- ALVES NETO, A.F. Avaliação da viabilidade de oocistos de *Neospora caninum* a diferentes condições de temperaturas e ação de desinfetantes. 68 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- ANDREOTTI, R.; LOAVTELLI-DITTRIC, R. Diagnóstico e Controle da Neosporose em Bovinos. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2003. 51p.
- ATKINSON, R.; HARPER, P.A.W.; REICHEL, M.P.; ELLIS, J.T. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections in cattle. *Parasitol. Today*, v.16, n.3, p.110-114, 2000.
- AZEVEDO, S.S.A; PENA, H.F.J.; ALVES, C.J.; GUIMARÃES FILHO, A.A.M.G; OLIVEIRA, R.M.; MAKSIMOV, P.; SCHARES, G.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal*, v.19, n.2, p.80-84, 2010.
- AZEVEDO, S.S.; SOTO, F.R.M.; MAORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; BATISTA, C.S.A.; VUADEN, E.; VASCONCELLOS, S.A. The effects of the leptospiral infections on reproductive performance in sows. *Vet. Archive*, v.78, n.1, p.13-21, 2008.
- AZEVEDO, S.S.; SOTO, R.M.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; VUADEN, E.R.; BATISTA, C.S.A.; SOUZA, G.O.; DELBEM, A.C.B.; GONÇALVES, A.C.P.; VASCONSELLOS, S.A. Frequency of anti-leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of São Paulo, Brazil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.73, n.1, p.97-100, 2006.

BÁRTOVÁ, E.; SEDLÁK, K. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in slaughtered pigs in the Czech Republic. *Parasitology*, v.138, p.1369-1371, 2011.

BÁRTOVÁ, E.; SEDLÁK, LITERÁK, I. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in wild boars in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.*, v.142, n.1-2, 2006.
 BEHNKE, M.S.; KAHN, A.; WOOTTON, J.C.; DUBEY, J.P.; TANG, K.; SIBLEY, L.D. Virulence differences in *Toxoplasma* mediated by amplification of a family of polymorphic pseudokinases. 2011. PNAS Early Edition. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/early/2011/05/16/1015338108.full.pdf>>. Acesso: 05 maio 2013.

BEZERRA, R.A.; PARANHOS, E.B.; DEL'ARCO, A.E.; ALBUQUERQUE, G.R. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v.18, n.3, p.78-80, 2009.

BJERKÅS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd*, v.70, p.271-274, 1984.

BOAK, R.A.; CARPENTER, C.M. *Brucella abortus* agglutinins in porcine blood. *J. Infect. Dis.*, v.46, p.425-429, 1930.

BOLT, I. Leptospirosis in New Zealand pig herds. 335 f.1990. Tese (Doutorado em Filosofia)-Massey University, Palmerston North, 1990.

BOQVIST, S. *Leptospira* infection among pigs in Southern Vietnam - aspects on epidemiology, clinical affection and bacteriology. 43 f. 2002. Tese-Swedish University of Agricultural Sciences, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL. Manual de Legislação: programas nacionais de saúde animal do Brasil. 1ª ed. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 400p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) - Manual Técnico. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical. v. 2. Belém: Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986. 764 p.

BRENDLE, J.J.; ROGUL, M.; ALEXANDER, A.D. Deoxyribonucleic acid hybridization among selected leptospiral serotypes. *Int. J. System. Bacteriol.*, v.24, n.2, p.205-214, 1974.

BRENNER, D.J.; KAUFMANN, A.F.; SULZER, K.R.; STEIGERWALT, A.G.; ROGERS, F.C.; WEYANT, R.S. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *Int. J. System. Bacteriol.*, v.49, p.839-858, 1999.

BULACH, D.M.; KALAMBAHETI, T.; DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, A. ADLER, B. Lipopolysaccharide biosynthesis in *Leptospira*. *J. Mol. Biotechnol.*, v.24, n.4, p.275-380, 2000.

BURRIEL, A.R.; VAROUDIS, L.; ALEXOPOULOS, C.; KRITAS, S.; KYTRIAKIS, S.C.; Serological evidence of *Brucella* species and *Leptospira interrogans* serovars in Greek swine herds. *J. Sw. Health and Prod.*, v.11, n.4, p.186-189, 2003.

BUXTON, D.; MALEY, S.W.; THOMSON, K.M.; TREES, A.J.; INNES, E.A. Experimental infection of non-pregnant sheep with *Neospora caninum*. *J. Comp. Path.*, v.117: p.1-16, 1997.

CADMUS, S.I.B.; IJAGBONE, I.F.; OPUTA, H.E.; ADESOKAN, H.K.; STACK, J.A. Serological survey of brucellosis and workers in Ibadan, Nigeria. *Afr. J. Biomed. Res.*, v.9, p.163-168, 2006.

CAMARGO, M.E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev. Bras. Pat. Clín.*, v.10, p.143-169, 1974.

CAMPOS, A.P.; GONÇALVES, L.M.F.; FREIRE, S.M.; LEAL, L.M.; MINEIRO, A.L.B.B.; COSTA, F.A.L. Aglutinininas antileptospiras em suínos abatidos para consumo e associação ao comprometimento hepático e pulmonar. *Revista de Patologia Tropical*, v.40, n.2, p. 137-148, 2011.

CARDOSO, M. O que representam os suínos na transmissão de zoonoses para humanos? *Acta Scientiae Veterinariae*, v.37, (Supl 1), s81-s89, 2009.

CARLETTI, R.T.; FREIRE, R.L.; SHIMADA, M.T.; RUFFOLO, B.B.; BEGALE, L.P.; LOPES, F.M.; LOPEZ, F.M.R.; NAVARRO, I.T. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciênc. Agr., Londrina*, v.26, n.4, p.563-568, 2005.

CAVALCANTI, E.F.T.S.F. Pesquisa de *Toxoplasma gondii* e anticorpos anti-*Leptospira* spp. no Agreste de Estado de Pernambuco, Brasil. 84 f. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária)-Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2011.

CAVALCANTI, S.S. Produção de suínos. Campinas: Instituto Campineiro Agrícola, 1984. 453 p.

CHANG, G.N.; NEMZEK, J.A.; TJOSTEM, J.L.; GABRIELSON, D.A. Simple hemagglutination inhibition test for the diagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.*, v.21, n.2, p.180-183, 1985.

CHRISTENSEN, J. Epidemiological concepts regarding disease monitoring and surveillance. *Acta vet. scand.*, Suppl.94, p.11-16, 2011.

CORBEL, M.J. Brucellosis in humans and animals. Geneva: World Health Organization, 2006. 89p.

CORDEIRO, F.; SULZER, C.R.; RAMOS, A.A. *Leptospira interrogans* in several wildlife species in Southeast Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.1, n.1, p.19-29, 1981.

COSTA, F.S. Diagnóstico da cadeia produtiva do suíno: produção e comercialização no Pará. 59 f. 2009. TCC (Especialização em Economia e Desenvolvimento Regional)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

COSTA, E.M.M.C. Ocorrência de brucelose bovina em alguns municípios da bacia leiteira de Belém, Estado do Pará. 36 f. 1990. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1990.

COSTA, C.A.; REZENDE, M.; LINS, Z. Leptospiroses no Estado do Pará e Território Federal do Amapá. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.29/30, p.1-4, 1969/1970.

CVETNIĆ, Ž.; ŠPIČIĆ, S.; TONČIĆ, J.; MAJNARIĆ, D.; BENIĆ, M.; ALBERT, D.; THIÉBAUD, M.; GARIN-BASTUJI, B. *Brucella suis* infection in domestic animals and wild boar in Croatia. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 28(3): 1057-1067, 2009.

DAMRIYASA, I.M.; BAUER, C.; EDELHOFER, R.; FAILING, K.; LIND, P.; PETERSEN, E.; SCHARES, G.; TENTER, A.M.; VOLMER, R.; ZAHNER. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. *Vet. Parasitol.*, v.126, p.271-286, 2004.

DIAS, A.C. Manual Brasileiro de Boas Práticas Agropecuárias na Produção de Suínos. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. 140 p.

D'ANGELINO, J.L.D.; ISHIZUKI, M.M. Toxoplasmose suína. 3. Avaliação da prevalência de infecção toxoplásmica em rebanhos suínos pela prova de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. *Bol. of Sanit. Panam.*, v.100, n.6, p.634-647, 1986.

DA SILVA, C.L. Inquérito sorológico de *Neospora caninum* em rebanhos bovinos leiteiros no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará. f6 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

DELBEM, A.C.B.; FREIRE, E.L.; SILVA, C.A.; MÜLLER, E.E.; DIAS, R.A.; FERREIRA NETO, J.S.; FREITAS, J.C. Fatores de risco associados à soropositividade em matrizes suínas. *Ciênc. Rural*, v.34, n.3, p.847-852, 2004.

DOS SANTOS, W.R.R. Investigação soroepidemiológica para brucelose e leptospirose em equídeos de tração e seus tratadores nos municípios de Belém e Ananindeua - Pará. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

DOS SANTOS, C.B.; CARVALHO, A.C.; RAGOZO, A.M.; SOARES, R.M.; AMAKU, M.; YAI, L.E. DUBEY, J.P.; GENNARI, S.S. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.131, n.3-4, p.207-211, 2005.

DUBEY, J.P.; JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int. J. Parasitol.*, v.38, p.1257-1278, 2008.

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

DUBEY, J.P.; GAMBLE, .H.R.; HILL, D.; SREEKUMAR, C.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. *J. Parasitol.*, v.88, n.6, p.1234-1238, 2002.

DUBEY, J.P.; ANDREWS, C.D.; THULLIEZ, P.; LIND, P.; KWOK, O.C. Long-term humoral antibody responses by various serologic tests in pigs orally inoculated with oocysts of ofur strains of *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.*, v.68, n.1-2, p.41-50, 1997.

DUBEY, J.P.; ANDREWS, C.D.; LIND, P.; KWOK, O.C.; THULLIEZ, P.; LUNNEY, J.K. Antibody responses measured by various serologic tests in pigs orally inoculated with low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am. J. Vet. Res.*, v.57, n.12, p.1733-1737, 1996a.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachizoites, bradizoites and biology and development of tissue cysts. *Cin. Microbiol. Rev.*, v.11, n.2, p.267-299. 1998.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; ADAMS, D.S.; GAY, J.M.; BASZLER, T.V.; BLAGBURN, B.L.; THLLIEZ, P. Serological response of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.*, v.57, n.3, p.329-336, 1996b.

DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P.; WEIGEL, R.M.; ANDREWS, C.D.; LIND, P.; POWELL, E.C. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am. J. Vet. Res.*, 56(8): 1030-1036, 1995a.

DUBEY, J.P.; WEIGEL, R.M.; SIEGEL, A.M.; THULLIEZ, P.; KITRON, U.D.; MITCHELL, M.A.; MATEUS-PINILLA, N.E.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C. et al. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J. Parasitol.*, v.81, n.5, p.723-729, 1995b.

DUBEY, J.P.; LEIGHTY, J.C.; BEAL, V.C.; ANDERSON, W.R.; ANDREWS, C.D.; THULLIEZ, P. National seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs. *J. Parasitol.*, v.77, n.4, p.517-521, 1991.

DUBEY, J.P.; SCHAFLE, D.H.; URBAN JR, J.F.; LINDSAY, D.S. Lesions in fetal pigs with transplacentally-induced toxoplasmosis. *Vet. Pahol.*, v.27, p. 411-418, 1990.

DUBEY, J.P.; URBAN JR, J.F. Diagnosis of tranploacentally induced toxoplasmosis in pigs. *Am. J. Vet. Res.*, v.51, n.8, p.1295-1298, 1990.

DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A.; TOPPER, M.J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 192(9): 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. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.193, n.10, p.1259-1263, 1988b.

- FAVERO, A.C.M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Sorovares de leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães em diversos estados brasileiros. *Ciê. Rural*, v.32, n.4, p.613-619, 2002.
- FERREIRA, C.A.P.; CARVALHO, R.A.; FERREIRA, M.S.G.; SMITH, J.; VAN DE KOPP, P. Caracterização socioeconômica dos pequenos produtores rurais do nordeste paraense. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 21p.
- FERNANDES, A.C.A. Censo de mamíferos em alguns fragmentos de floresta atlântica no Nordeste do Brasil. 39 f. 2003. Dissertação (Mestre em Biologia Animal)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2003.
- FERNANDES, W.J.; BARBOSA, W. Toxoplasmose - notas sobre sua ocorrência em animais domésticos de Goiânia - (1970). *Rev. Pat. Trop.*, v.1, n.2, p.259-265, 1972.
- FREITAS, J.A.; OLIVEIRA, J.P.; RAMOS, O.S.; ISHIZUKA, M.M. Frequência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em suínos abatidos sem inspeção em Belém. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.5, p.1230-1232, 2009.
- FREITAS, J.A.; AGUIAR, R.V.; PEDROSO, S.C.S.; BARROSO, R.; MONTEIRO, F.J.C. Levantamento da ocorrência de tuberculose e brucelose em rebanhos leiteiros no Estado do Pará. *Rev. Ciênc. agrár.*, Belém, n.46, p.227-237, 2006.
- FREITAS, J.A.F.; GALINDO, G.A.R.G.; SANTOS, E.J.C.; SARRAF, K.A.; OLIVEIRA, J.P. Risco de brucelose zoonótica associado a suínos de abate clandestino. *Rev. Saúde Pública*, v.35, n.1, p.101-102, 2001.
- FUENTES, I.; RUBIO, J.M.; RAMÍREZ, C.; ALVAR, J. Genotypic characterization of Toxoplasma gondii strains associated with human toxoplasmosis ins Sapin: direct analysis from clinical samples. *J. Clin. Microbiol.*, v.39, n.4. 1566-1570, 2001.
- GALVÃO, E.U.P.; VILLAR, R.L.L.; MENEZES, A.J.E.A.; SANTOS, A.A.R.. Análise de renda e de mão-de-obra nas unidades agrícolas familiares da comunidade de Nova Colônia, Município de Capitão-Poço, Pará. *Rev. Ciênc. Agrár.*, v.46, p.29-39, 2006.
- GAMBLE, H.R.; DUBEY, J.P.; LAMBILLOTTE, D.N. Comparison of a comercial ELISA with the modified agglutination test for detection of Toxoplasma infection in domestic pig. *Vet. Parasitol.*, v.128, p.177-181, 2005.
- GARCÍA-BOCANEGRA, I.; SIMON-GRIFÉ, M.; SIBILA, M.; DUBEY, J.P.; CABEZÓN, O.; MARTÍN, G.; ALMEÍRA, S. Duration of maternally derived antibodies in Toxoplasma gondii naturally infected pigs. *Vet. Parasitol.*, v.170, p.134-136, 2010a.
- GARCÍA-BOCANEGRA, I.; DUBEY, J.P.; SIMON-GRIFÉ, M.; CABEZÓN, O.; CASAL, J.; ALLEPUZ, A.; NAPP, S.; ALMERÍA, S. Seroprevalence and risk factors associated with Toxoplasma gondii infection in pig farms from Catalonia, north-eastern Spain. *Res. Vet. Sc.*, v.89, p.85-87, 2010b.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, .I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguatipã, Estado do Paraná, Brasil. *Ciênc. Rural*, v.29, n.1, p.99-104, 1999.

GENOVEZ, M.E. Leptospirose: uma doença de ocorrência além da época das chuvas. *Biológico*, São Paulo, v.71, n.1, p.1-3, 2009.

GENTILE, R.; COSTA NETO, S.F.; D'ANDREA, P.S. Uma revisão sobre a participação do rato d'água *Nectomys squampies* na dinâmica de transmissão da esquistossomose mansônica: um estudo multidisciplinar de longo prazo em uma área endêmica. *Oec. Aust.*, v.14, n.2, p.711-725, 2010.

GEORGIEVA, D.A.; PRELEZOV, P.N.; KOINARSKI, V.TS. *Neospora caninum* and neosporosis in animals - a review. *Bulg. J. Vet. Med.*, 9(1): 1-26, 2006.

GODFROID, J. Brucellosis in wildlife. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, v.21, n.2, p.277-286, 2002.

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

GONDIM; L.F.P.; GAO, L.; MCALLISTER, M.M. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dog and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J. Parasitol.*, v.88, n.6, p. 1159-1163, 2002.

GUL, S.T.; KHAN, A. Epidemiology and epizootiology of brucellosis: a review. *Pakistan Vet. J.*, v.7, n.3, p.145-151, 2007.

HASHIMOTO, V.Y.; ANZAI, K.A.; GALHARDO, J.A.; DELBEM, A.C.B.; OLIVEIRA, R.C.; ALVES, L.A.; FREITAS, J.C. Fatores de risco para leptospirose suína. In: XI Encontro Anual de Iniciação Científica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002. Disponível em: <http://www.ppg.uem.br/Docs/pes/eaic/XI_EAIC/trabalhos/arquivos/11-0782-1.pdf>; Acesso: 26 maio 2013.

HASHIMOTO, V.Y.; GARCIA, J.L.; SPOHR, K.A.H.; DA SILVA, F.G.; ALVES, L.A.; DE FREITAS, J.C. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do Município de Jaguatipã, Estado do Paraná. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.3, p.521-524, 2010.

HELMICK, B.; OTTER, A.; MCGARRY, J.; BUXTON, D. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res. Vet. Sci.*, v.73. n.2, p.187189, 2002.

HEMBRECHT, E.; EISSEN, J.J.; NEWMAN, D.J.; SMITS, C.H.M.; DEN HARTOG, L.A.; VERSTEGEN, M.W.A. Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions. *J. Anim. Sci.*, v.83, p.440-448, 2005.

HILL, D.E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J.P.; LUNNEY, J.K.; GAMBLE, H.R. Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Vet. Parasitol.*, v.141, p.9-17, 2006.

HOWE, D.K.; TANG, K.; CONRAD, P.A.; SVERLOW, K.; DUBEY, J.P.; SIBLEY, L.D. Sensitive and specific identification of *Neospora caninum* infection of cattle based on detection of serum antibodies to recombinant Ncp29. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, v.9, n.3, p. 611-615, 2002.

HOWE, D.K.; SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J. Infect. Dis.*, 172: 1561-1566, 1995.

HYMAN, J.A.; JOHNSON, L.K.; TSAI, M.M.; O'LEARY, T.J. Specificity of polymerase chain reaction identification of *Toxoplasma gondii* infection in paraffin-embedded animal tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.7, p.275-278, 1995.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de Dados Agregados**. 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Acesso: 01 março 2012

IBGE. Censo Agropecuário 2006 - Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2006. 777p.

ISHIZUKA, M.M. Estudo comparativo entre provas de Sabin-Feldman e de Imunofluorescência Indireta para determinação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de suínos. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ.*, v.15, n.1, p.045-050, 1978.

JENSEN, L.; JENSEN, T.K.; LIND, P.; HENRIKSEN, S.A.; UGGLA, A.; BILLE-HANSEN, V. Experimental porcine neosporosis. *APMIS*, v.106, n.4, p.475-482, 1998.

JESUS, V.L.T.; PEREIRA, R.C.G.; MEIRELES, G.S.; RODRIGUES, J.S.; JORGE, J.L.B.P.; FLAUSINO, W. Brucelose suína no Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.32, n.2, p.101-104, 2010.

JOST, B.H.; ADLER, B.; FAINE, S. Experimental immunisation of hamsters with lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans*. *J. Med. Microbiol.*, v.29, p.115-120, 1989.

JUNG, B.Y.; PARK, C.K.; LEE, C.H.; JUNG, S.C. Seasonal and age-related seroprevalence of *Leptospira* species in pigs in Korea. *Vet. Rec.*, v.165, n.12, p.345-346, 2009.

KAMGA-WALADJO, A.R.; CHATAGNON, G.; BAKOU, S.N.; BOLY, H.; DIOP, P.E.H.; TAINURIER, D. *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive characteristics in wandering sows from Senegal, West Africa. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, v.4, n.5, p.263-266, 2009.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, v.41, n.4, p. 229-235, 2005.

LAGE, A.P.; POESTER, F.P.; PAIXÃO, T.A.; SILVA, T.M.A.; XAVIER, M.N.; MINHAROO, S.; MIRANDA, K.L.; ALVES, C.M.; MOL, J.S.P.; SANTOS, R.L. Brucelose bovina: uma atualização. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*; 32(3): 202-212, 2008.

LÁU, H.D.; SINGH, N.P. Distribuição e prevalência da brucelose em búfalos no Estado do Pará. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1985. 15p.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Reviews*, v.14, p.296-326, 2001.

LIMA, R.C. Leptospire: um estudo epidemiológico de medidas preventivas em uma região do Município de Belém, Pará. 66 f. 2009. TCC (Bacharelado em Biomedicina)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

LIND, P.; HAUGEGAARD, J.; WINGSTRAND, A.; HENRIKSEN, S.A. The time course of the specific antibody response by various ELISAs in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*, *Vet. Parasitol.*, v.71, n.1, p.1-15, 1997.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive hosto for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, v.82, p.327-333, 1999.

LUCHEIS, S.B.; FERREIRA JUNIOR., R.S. Ovine leptospirosis in Brazil. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 174, p.394-405, 2011.

LUDOVINO, R.M.R.; TOURRAND, J-F.; VEIGA, J.B. Tipologia dos sistemas de produção da agricultura familiar na microrregião do Arari da Ilha de Marajó-PA. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 99p.

MATOS, M.P.C.; SOBESTIANSKY, J.; PÔRTO, R.N.G.; MEIRINHOS, M.L.G. Ocorrência de anticorpos para *B. abortus* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goinânia, Estado de Goiás, Brasil. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.5, n.2, p.105-108, 2004.

MIELE, M.; SANTOS FILHO, J.I.S.; MARTINS, F.M.; SANDI, A.J. O desenvolvimento da suinocultura brasileira nos últimos 35 anos. In: SOUZA, J.C.P.V.B.; TALAMINI, D.J.D.; SCHEUERMANN, G.N.; SCHIMIDT G.S. Sonho, desafio e tecnologia - 35 anos de contribuições da Embrapa Suínos e Aves. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. p. 85-101.

MIELE, M.; MACHADO, J.S.. Panorama da carne suína brasileira. *Agroanalysis*, janeiro, p.36-45, 2010.

MILLAR, P.R.; SOBREIRO, L.G.; BONNA, I.C.F.; AMENDOEIRA, M.R.R. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. *Semina: Ciênc. Agr.*, Londrina, v.29, n.3, p.693-706, 2008.

MILLAR, B.D.; CHAPPEL, R.J.; ADLER, B.; DRIESEN, S.J.; JONES, R.T. Effect of maternal vaccination on the susceptibility of growing pigs to leptospiral infection. *Vet. Microbiol.*, v.15, n.1-2, p.79-87, 1987.

MILLER, D.A.; WILSON, M.A.; OWEN, W.J.; BERAN, G.W. Porcine leptospirosis in Iowa. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.2, p.171-175, 1990.

MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; COSTA, G.H.N.; VON ANCKEN, A.C.B.; KASPER, L.H.; SOUZA, M.A.; CABRAL, D.D.; COSTA, A.J.; MINEO, J.R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in veterinary hospital from Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.98, p.239-245, 2001.

MINHO, A.P.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; GENNARI, M.; MARANA, E.M.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test and modified test for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in experimentally infected pigs. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24, n.4, p.199-202, 2004.

MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. *The Lancet*, 363: 1965-1976, 2004.

MORAES, C.C.G.; GUERREIRO, A.N.; KURODA, R.B.S.; SOUZA, V.A.F.; MENESES, A.M.C.; VASCONCELLOS, S.A. Inquérito sorológico para leptospirose em rebanhos de ovinos no município de Igarapé-Açu, Estado do Pará. *Rev. Cienc. Agrar.*, v.55, n.1, p.58-60, 2012.

MOREIRA, R.Q. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira* spp. em rebanho ovino no município de Uberlândia, MG. 59 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

MORES, N.; ZANELLA, J.C. Perfil sanitário da suinocultura no Brasil. *Suinocultura Industrial*, v.189, n.27, p.36-40, 2005. 29p.

NOGUEIRA, S.S.. Intensificação ou diversificação? A pecuária leiteira em questão. 156 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Agriculturas Familiares e Desenvolvimento Sustentável) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

OLIVEIRA, S.V.; ARSKY, M.L.N.S.; CALDAS, E.D. Reservatórios animais da leptospirose: uma revisão bibliográfica. *Saúde (Santa Maria)*, v.39, n.1, p.9-20, 2013.

OLIVEIRA FILHO, J.X.; DE PAULA, D.A.J.; MORÉS, N.; PESCADOR, C.A.; CIACCIZANELLA, J.R.; COLDEBELLA, A.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L. Interstitial nephritis of slaughtered pigs in State of Mato Grosso, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.32, n.4, p.313-318, 2012.

OLIVEIRA, S.J.; LIMA, P.C.R. Leptospirose em suínos: etiologia, diagnóstico e controle (Revisão). *Pesq. Agrop. Gaúcha*, 2(1): 119-128, 1996.

OLSEN, S. Porcine brucellosis. In: WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 7th Ed. 2012. Disponível em: <<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/>>. Acesso em: 10 abril 2013.

OSAVA, C.F.; SALABERRY, S.R.S.; NASCIMENTO, C.C.N.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C.; MOREIRA, R.Q.; CASTRO, J.R.; RIGO, V.H. Ocorrência de anticorpos anti-leptospira em diferentes sistemas de criação de suínos. *Biosc. J.*, v.26, n.2, p.202-207, 2010.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Vol. III.: Parasitoses (Scientific and Technical Publication No. 580). 3 ed. Washington: PAHO, 2003. 395p.

PARÁ. GOVERNO DO ESTADO. Plano de desenvolvimento territorial sustentável do Arquipélago do Marajó. 2007. Disponível em: <http://sit.mda.gov.br/download/ptdrs/ptdrs_territorio129.pdf>. Acesso: 13 maio 2013.

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

PAȘTIU, A.L.; GYÖRKE, a.; BLAGA, R.; MIRCEAN, V.; ROSENTHAL., B.M.; COZMA, V. In Romania, exposure to *Toxoplasma gondii* occurs twice as often in swine raised for familial consumption as in hunted wild boar, but occur rarely, if ever, among fattening pigs raised in confinement. *Parasitol. Res.*, v.112, n.6, p.2403,2407, 2013.

PAULIN, L.M.S.; FERREIRA NETO, J.S. Brucelose em búfalos. *Arq. Inst. Biol.*, v.75, n.3, p.389-401, 2008

PAZ, G.S.; MORAES, C.C.G. Ocorrência de anticorpos contra *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães oriundos da Região Metropolitana de Belém e do Município de Castanhal, Estado do Pará. *Semin. de IC. UFPA*, v.22, n.1, 2011. Disponível em: <http://pibic.ufpa.br/ANAISEMNIC/XXIISEMINIC/arquivos/resumos/Ci%C3%A4ncias%20Agr%C3%A1rias/ciencias_agrarias_recursos_florestais_engenharia_florestal005.pdf>. Acesso: 03 julho 2013.

PELLISSARI, D.M., MAIA-ELKHOURY, A.N.S.; ARSKY, M.L.N.; NUNES, M.L. Systematic review of factors associated to leptospirosis in Brazil, 2000-2009. *Epidemiol. Serv. Saúde*, v.20, n.4, p.565-574, 2011.

PEREIRA, J.A. Soroprevalência da infecção por *Leptospira* spp em matrizes suínas oriundas do médio norte do Estado de Mato Grosso. 48 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2009.

POESTER, F.P. Brucelose. 2013. Disponível em: <http://www.zoonoses.org.br/absoluto/midia/imagens/zoonoses/arquivos_1258562392/1323_brucelose.pdf>. Acesso: 20 janeiro 2013.

PROTAS, J.F.S.; SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; PIFFER, I.A. Custo de um surto de pleuropneumonia suína. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1985. 3p.

RAHMAN, M.S.; NURUZZAMAN, N.; AHASAN, M.S.; SARKER, R.R.; CHAKRABARTTY, A.; NAHAR, A.; UDDIN, M.J.; SARKER, M.A.S.; AKHTER, L. Prevalence of brucellosis in pigs: the first report in Bangladesh. *Bangl. J. Vet. Med.*, v.10, n.1&2, p.75-80, 2012.

RAMOS, L.L. Pesquisa soro-epidemiológica de *Leptospira interrogans* em suínos (*Suis scrofa domesticus*) em seis municípios do Estado do Pará. 49 f. 2007. TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal Rural da Amazônia, 2007.

ROCHA, K.S.; PAZ, G.S.; GUERREIRO, A.N.; MORAES, C.C.G.; SILVA, B.D.; LANGONIA, H.; GUEDES, I.B.; JORDÃO, R.S. Ocorrência de anticorpo anti-leptospira spp. e anti-Brucella abortus em minicavalo puruca da Ilha do Marajó. *Biológico*, São Paulo, v.74, n.2, p.75-180, 2012.

ROSA, D.C.; GARCIA, K.C.O.D.; MEGID, J. Soropositividade para brucelose em suínos em abatedouros. *Pesq. Vet. Bras.*, v.32, n.7, p.632-526, 2012.

SALLES-FILHO, S.; ZACKIEWICZ, M. Prioridades de pesquisa para suínos e aves. *Revista TeC Carnes - Campinas*, v.3, n.1, p.1-6, 2001.

SANTOS, M.R.D. Medicina da conservação no Brasil, realidades, perspectivas e desafios. *Revista CFMV*, v.XV, n.48, p. 70-75, 2009.

SANTOS, W.R.R. Investigação soropidemiológica para brucelose e leptospirose em equídeos de tração e seus tratadores nos Municípios de Belém e Ananindeua - Pará. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

SCHENK, M.A.M. Frequência e isolamento de *Toxoplasma gondii* em suínos do Estado de Minas Gerais. 58 f. 1976. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1976.

SCHULTZ, R.A.. Produção mundial de carne suína – comparação dos custos de produção. *Suinocultura Industrial*, v.189, n.27, p. 26-35, 2005.

SILVA, A.V.; SILVA, R.C.; ZAMPROGNA, T.O.; LUCAS, T.M. *Toxoplasma gondii* em suínos com ênfase na contribuição brasileira. *Scientia Medica (Porto Alegre)*, v.20, 1, p.120-130, 2010.

SILVA, R.A.M.S.; BONASSI, C.; COSTA, O.A.D.; MORÉS, N. Serosurvey on toxoplasmosis in outdoor pig production systems of the Southern Region of Brazil. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, v.56, n.3-4, p.145-147, 2003.

SILVEIRA, P.R.S. Fatores que interferem na taxa de parição em rebanhos suínos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.31, n.1, p. 32-37, 2007.

SELLEM, M.N; BOYLE, S.M.; SRIRANGANATHAN, N. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Vet. Microbiol.*, v.140, p.392-398, 2010.

SOLAYMANI-MOHAMMADI, S.; PETRI JR., W.A. Zoonotic implications of the swine-transmitted protozoal infections. *Vet. Parasitol.*, v.140, p.189-203, 2006.

SOTO, F.R.M.; VASCONCELLOS, S.A.; PINHEIRO, S.R.; BERNARSI, F.; CAMARGO, S.R. Leptospirose suína. *Arq. Inst. Biol.*, v.74, n.4, p.379-395, 2007.

SOTO, F.R.M. Imunidade ativa e passiva em suínos vacinados contra a leptospirose. Emprego de vacina experimental de subunidade e duas bacterinas comerciais de bactérias completas. 114. 2006. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

ŠPIČIĆ, S.; ZDELAR-TUK, M.; RAČIĆ, I.; DUVNJAK, S.; CVETNIĆ, Ž. Serological and molecular diagnosis of brucellosis in domestic animals in Croatia. *Croat. Med. J.*, v.51, p.320-326, 2010.

STOFFREGEN, W.C.; OLSEN, S.C.; WHEELER, J.; BRICKER, B.J.; PALMER, M.V.; JENSEN, A.E.; HALLING, S.M.; ALT, D.P. Diagnostic characterization of a feral swine herd enzootically infected with *Brucella*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.19, n.227-237, 2007.

SUARÉZ-ARANDA, F.; GALISTEO, A.J.; HIRAMOTO, R.M.; CARDOSO, R.P.; MEIRELES, L.R.; MIGUEL, O.; ANDRADE JR., H.F. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet. Parasitol.*, v.91, n.1-2, p.23-32, 2000.

THIERMANN, A.B. The Norway rat as a selective chronic carrier of *Leptospira icterohemorrhagiae*. *J. Wildl. Dis.*, v.17, n.1, p.39-42, 1981.

TSUITSUI, V.S.; NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L.; FREITAS, J.C.; PRUDENCIO, L.B.; DELBEM, A.C.B.; MARANA, E.R.M. Soroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. *Archives of Veterinary Science*, v.8, n.2, p.27-34, 2003.

VALENÇA, R.M.B.; MOTA, R.A.; ANDERLINI, G.A.; FARIA, E.B.F.; CAVALCANTI, E.F.S.T.F.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; NETO, O.L.S.; GUERRA, M.M.P. Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em granjas suínícolas tecnificadas no Estado de Alagoas. *Pesq. Vet. Bras.*, v.31, n.2, p.121-126, 2011.

VALENÇA, R.M.B. Aspectos epidemiológicos das infecções por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Chlamydia abortus* em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas. 2009. 134 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária)-Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

VIJAYACHARI, P. *Leptospira*. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Leptospirosis: laboratory manual*. New Delhi: Indian Council of Medical Research, 2007. p.8-11

VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T.N.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R.; FREIRE, R.L. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da Região de Londrina - PR. *Semina*, v.11, n.1, p. 51-59, 1990.

VILLAFANE, I.E.G.; CAVIA, R.; VADELL, M.V.; SUÁREZ, O.V.; BUSCH, M. Differences in population parameters of *Rattus norvegicus* in urban and rural habitats of central Argentina. *Mammalia*, v.77, n.2, p.187-193, 2012.

VILLAFANE, I.E.G.; MUSCHETTO, E.; BUSCH, M. Movements of norway rats (*Rattus norvegicus*) in two poultry farms, Exaltación de la Cruz, Buenos Aires, Argentina. *Mast. Neotr.*, v.15, n.2, p.203-208, 2008.

WILSON, M.R.; TAKOV, R.; FRIENDSHIP, R.M.; MARTIN, S.W.; MCMILLIAN, I.; HACKER, R.R.; SWAMINATHAM, S. Prevalence of respiratory diseases and their association with growth rate and space in randomly selected swine herds. *Can. J. Vet. Res.*, v.50, n.209-216, 1986.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The Control of Neglected Zoonotic Diseases: Community-based interventions for prevention and control. Gênova: World Health Organization, 2010. 71p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Classification of leptospires and recent advances in leptospirosis. Bull. World Health Organ., v.32, n.6, p.-881-891, 1965.

WYATT, H.V. Brucellosis and Maltese goats in the Mediterranean. Journal of Maltese History, 1(2): 4-18, 2009

XAVIER, M.N.; PAIXÃO, T.A.; DEN HARTIGH, A.B.; TSOILS, R.M.; SANTOS, R. Pathogenesis of *Brucella* sp. The Open Vet. J. v.4, p. 109-118, 2010.

YASUDA, P.H.; STEIGERWALT, A.G.; SULZER, K.R.; KAUFMANN, A.F.; ROGERS, F.; BRENNER, D.J. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* Species. Int. J. System. Bacteriol., v.37, n.4, p.407-415, 1987.

ZAKIMI, S.; KYAH, H.; OSHIRO, M.; SUGIMOTO, C.; XUENAN, X.; FUJISAKI, K. Genetic characterization of GRA6 genes from *Toxoplasma gondii* from pigs in Okinawa, Japan. J. Vet. Med. Sci., 68(10): 1105-1107, 2006.

APÊNDICE A - Questionário epidemiológico para investigação de fatores de risco

	SIM	NÃO
Paredes de alvenaria		
Paredes com cercado de madeira		
Piso cimentado		
Piso de madeira		
Cama sobreposta		
Cobertura de telhas		
Cobertura de zinco		
Cobertura de fibrocimento		
Energia elétrica na propriedade		
Usa água de rede pública		
Usa água de poço		
Usa água de riacho		
Despeja resíduos em fossa		
Despeja efluentes no solo		
Despeja resíduos em corpo d'água		
Histórico de problema reprodutivo		
Histórico de problemas nervosos		
Histórico de problema respiratório		
Histórico de problema locomotor		
Desmame \geq 30 dias		
Alimenta com mistura comercial		
Alimenta com subprodutos		
Alimenta com restos de açougue		
Arraçoamento 2x por dia em vez de 1		
Vacina contra leptospirose		
Vacina contra outras doenças infecciosas		
Faz vermifugação		
Frequência anual da vermifugação		
Tem farmácia na criação		
Separa animais doentes		
Tratadores de animais doentes cuidam dos animais sadios		
Faz ciclo completo		
Faz terminação		
Atua a mais de cinco anos na atividade		
Cria em sistema semi-extensivo		
Criação em sistema de confinamento		
A produção é vendida		
A produção é consumida na propriedade		
Propriedade autônoma em vez de integrada		
Mão-de-obra familiar		
Uso de bebedouros tipo chupeta em vez de cocho		
Bebedouros comuns para jovens e adultos		
Adquire animais de outros estados		
Comedouro individual ao invés de coletivo		
Comedouros comuns para jovens e adultos		
Adquire animais de outros municípios		

Adquire animais de propriedades vizinhas		
Realiza quarentena		
Realiza exames nos animais de aquisição		
Limpeza diária das instalações		
Desinfecção das instalações		
Realiza vazio sanitário		
Lava os animais		
Banheiro exclusivo para funcionários		
Funcionários usam uniforme		
Presença de rodolúvio		
Presença de pedilúvio		
Presença de moscas		
Utiliza esterqueira		
Dejetos são comercializados		
Dejetos são usados na propriedade		
Alimentos entram em contato com as fezes		
Abortos são queimados ou enterrados		
Queima ou enterra as carcaças		
Recebe assistência veterinária		
Restos placentários são queimados ou enterrados		
Fez reposição nos últimos 5 anos		
Leitões consomem colostro		
Presença de gatos na propriedade		
Gatos entram nas instalações		
Gatos entram na fábrica ou depósito de ração		
Gatos se alimentam de restos placentários ou de suínos mortos		
Presença de cães na propriedade		
Cães entram nas instalações		
Cães entram na fábrica ou depósito de ração		
Cães se alimentam de restos placentários ou de suínos mortos		
Animais silvestres circulam na propriedade		
Presença de roedores		
Realiza controle estratégico dos roedores		
Criação concomitante de ruminantes		
Criação concomitante de aves domésticas		
Além dos suínos cria equídeos		