



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Lucas Emanuel de Oliveira Lopes

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE BRUCELOSE, NEOSPOROSE E
TOXOPLASMOSE EM REBANHO BOVINO DA UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DO SEMI-ÁRIDO**

MOSSORÓ, 2024

Lucas Emanuel de Oliveira Lopes

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE BRUCELOSE, NEOSPOROSE E
TOXOPLASMOSE EM REBANHO BOVINO DA UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DO SEMI-ÁRIDO**

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Filgueira Alcindo

MOSSORÓ, 2024

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas
da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L8641 Lopes, Lucas Emanuel de Oliveira .
Levantamento sorológico de Brucelose,
Neosporose e Toxoplasmose em rebanho bovino da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido / Lucas
Emanuel de Oliveira Lopes. - 2024.
40 f. : il.

Orientador: Jefferson Filgueira Alcindo
Alcindo.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de , 2024.

1. Toxoplasmose. 2. Antígeno. 3. Titulação. I.
Alcindo, Jefferson Filgueira Alcindo, orient. II.
Título.

Setor de Informação e Referência

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).

Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Lucas Emanuel de Oliveira Lopes

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE BRUCELOSE, NEOSPOROSE E
TOXOPLASMOSE EM REBANHO BOVINO DA UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DO SEMI-ÁRIDO**

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Defendida em: 24 / 10 / 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jefferson Filgueira Alcindo (UFERSA)
Presidente

Prof. Dr. Erick Platini Ferreira de Souto (UFERSA)
Membro Examinador

M.V. Esp. José Felipe Napoleão Santos (UFERSA)
Membro Examinador

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho a minha Avó Irene
(In Memoriam). Onde quer que a senhora
esteja, quero que saiba que eu consegui, e não
irei parar por aqui.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por fazer-se sempre presente em minha vida, concedendo-me força e perseverança para alcançar os meus objetivos, bem como guiando-me constantemente pelos caminhos do bem.

Agradeço aos meus queridos e amados pais, Edivan e Filó, externo o meu amor e admiração, por não medirem esforços junto a mim, na busca da realização deste sonho. São minha base, meu alicerce e meu norte. Rogo a Deus pelas suas vidas, para juntos irmos sempre mais longe.

Agradeço aos meus familiares, com destaque aos meus irmãos, que durante este processo se fizeram presentes, em gestos, palavras e orações. Esta vitória é nossa.

Agradeço á todos os mestres da minha jornada acadêmica, e em especial ao meu orientador Prof. Dr. Jefferson Filgueira que, mesmo diante de todas as suas demandas, disponibilizou-se sem medir esforços à acompanhar-me na construção deste trabalho. Saiba que guardo em mim a sua imagem com admiração pelo exemplo de profissional e ser humano que és.

Agradeço ao Professor Vinícius Vilela, e a todos os seus orientandos do IFPB (Sousa-PB), pela disponibilidade de tempo e auxílio na RIFI para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* no laboratório LIDIC.

Agradeço aos meus Amigos, que com apoio e incentivo se fizeram presentes nos momentos em que precisei de amparo, ora com palavras, gestos e motivação. À estes, estendo o sentimento de gratidão e afeto.

Agradeço Por fim, mas não menos importante, externo a minha gratidão aos membros desta banca examinadora por aceitarem se fazer presentes à culminância de um momento tão esperado não apenas por mim, mas por todos que estiveram comigo desde o início deste sonho.

RESUMO

As doenças reprodutivas em bovinos são de grande importância por afetarem diretamente a eficiência produtiva e a sustentabilidade da pecuária, além de trazer riscos à saúde pública. O objetivo deste trabalho foi fazer um levantamento sorológico de Brucelose, Neosporose e Toxoplasmose em rebanho bovino da Universidade Federal Rural do Semi Árido. Foi coletado 40 amostras de sangue bovino e 5 amostras de felinos errantes que residem no setor. O teste utilizado para diagnóstico de brucelose foi o Antígeno Acidificado Tamponado (ATT), enquanto que para detecção de anticorpos anti-*T gondii* e anti-*N caninum* foi realizado o teste de reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Das 40 amostras de bovinos analisadas 7,5% (3/40) apresentaram positivos para *T. gondii*, com titulações de 1:200 e 1:400, enquanto que para *N. caninum* houve uma prevalência de 2,5% (1/40) com titulação de 1:200, indicando que esses animais tiveram contato com o parasita em algum momento de suas vidas. Nos felinos foi encontrada uma prevalência de 80% (4/5) para toxoplasmose, com titulações de 1:128, o que indica que esses animais oferecem riscos de disseminação da doença no rebanho.

Palavras-chave: Toxoplasmose; Antígeno; Titulação.

ABSTRACT

Reproductive diseases in cattle are of great importance because they directly affect productive efficiency and sustainability of livestock farming, in addition to posing risks to public health. The objective of this study was to conduct a serological survey of Brucellosis, Neosporosis and Toxoplasmosis in a cattle herd at the Universidade Federal Rural do Semi Árido. Forty bovine blood samples and five samples from stray felines residing in the sector were collected. The test used to diagnose brucellosis was the Buffered Acidified Antigen (ATT), while the indirect immunofluorescence reaction (IFAT) test was used to detect anti-*T gondii* and anti-*N caninum* antibodies. Of the 40 bovine samples analyzed, 7.5% (3/40) tested positive for *T. gondii*, with titers of 1:200 and 1:400, while for *N. caninum* there was a prevalence of 2.5% (1/40) with titer of 1:200, indicating that these animals had contact with the parasite at some point in their lives. In felines, a prevalence of 80% (4/5) for toxoplasmosis was found, with titers of 1:128, which indicates that these animals pose a risk of spreading the disease in the herd.

Keywords: Toxoplasmosis; Antigen; Titration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Ciclo biológico do <i>N.caninum</i>	24
Figura 2	–	Ciclo biológico do <i>T. gondii</i>	30
Figura 3	–	Amostras em tubos anticoagulantes	33
Figura 4	–	Teste do AAT não reagente	34
Figura 5	–	Teste do AAT reagente	34
Figura 6	–	Teste de Imunofluorescência Indireta RIFI - Reagente	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Distribuição de titulação de bovinos e felinos reagentes para <i>T.gondii</i>	34
Tabela 2	- Distribuição de titulação de bovinos reagentes para <i>N.caninum</i>	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASA	Hospital Adílio Santos Azevedo
AT	Antígeno Acidificado Tamponado
CO ₂	Gás carbônico
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
FAO	Organização para alimentação e agricultura
FC	Fixação de Complemento
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio
IGM	Imunoglobulina M
LIDIC	Laboratório de imunologia e doenças infectocontagiosas
LPS	Lipossacarídeo
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MAT	Teste de aglutinação modificada
OMS	Organização Mundial da Saúde
OIE	Office International des Epizooties
PCR	Reação de cadeia de polimerase
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
PI	Persistentemente infectado
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
SNC	Sistema nervoso central
TAL	Teste de Anel do leite
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	BRUCELOSE	14
2.1.1	Histórico da doença	14
2.1.2	Etiologia	14
2.1.3	Patogenia	16
2.1.4	Sinais clínicos	19
2.1.5	Diagnóstico	20
2.1.6	Profilaxia	21
2.2	NEOSPOROSE	22
2.2.1	Histórico da doença	22
2.2.2	Etiologia	22
2.2.3	Patogenia	23
2.2.4	Sinais clínicos	25
2.2.5	Diagnóstico	26
2.2.6	Profilaxia	27
2.3	TOXOPLASMOSE	28
2.3.1	Histórico da doença	28
2.3.2	Etiologia	29
2.3.3	Patogenia	29
2.3.4	Sinais clínicos	31
2.3.5	Diagnóstico	31
2.3.6	Profilaxia	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Atividades de campo	33
3.2	Animais	33
3.3	Testes sorológicos	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores envolvidos na viabilidade econômica da criação de bovinos (FEUZ e UMBERGER, 2003; WOLF, 2003). Portanto, as doenças reprodutivas assumem um valor importante nesse sentido. Além disso, várias dessas doenças causam ainda impacto na saúde pública, uma vez que possuem potencial zoonótico (AMARAL et al., 2024; ALFIERE et al., 2017).

O rebanho bovino brasileiro alcançou um novo recorde de 234,4 milhões de animais no ano de 2022, com alta 4,3% em relação ao ano interior, se mantendo o segundo país com o maior rebanho bovino do mundo, ficando atrás somente da Índia (IBGE, 2023). Porém, o Brasil lidera o ranking de países com maior exportação de carne bovina do mundo, promovendo um grande impacto na economia nacional, valorizando a pecuária do país.

As doenças reprodutivas em bovinos têm um impacto significativo na economia do país devido às perdas produtivas que elas acarretam. Essas enfermidades afetam diretamente a capacidade reprodutiva do rebanho, resultando em quedas na taxa de prenhez, abortos, nascimento de bezerros debilitados e redução da produção de leite. Essas consequências levam à diminuição da eficiência produtiva e ao aumento dos custos de manejo. O estudo realizado apenas em um município do estado de Santa Catarina, avaliou a epidemiologia e o impacto econômico da brucelose no município, no qual foi estimado uma perda de R\$14.747,92 anual por propriedade (POSSA et al., 2021).

No Brasil, existem várias causas de insuficiência reprodutiva dos bovinos, dentre as principais causas infecciosas podemos citar doenças bacterianas (brucelose, leptospiroses, campilobacteriose), por protozoários (neosporose, toxoplasmose, tricomoniase) e virais (rinotraqueíte infecciosa bovina e vírus da diarreia ovina). Em levantamento realizado no sul do país, 33% dos abortos ocorreram em virtude de infecção por *Neospora caninum*, *Babesia bovis* e *Toxoplasma gondii* (ANTONIASSI et al, 2013). No Nordeste, particularmente na região semiárida, são escassos os estudos que abordem essa temática.

Segundo Melo et al., (2022), a prevalência de toxoplasmose no Brasil é uma das mais elevadas no mundo. Em 2016 a soroprevalência dessa enfermidade em adultos variou de 40-80%. Atualmente estudos apontam que 50-80% das mulheres em idade fértil possuem anticorpos contra o parasito, enquanto que o nascimento de crianças infectadas varia em torno de 5-23 a cada 10.000 nascidos vivos no país (Brasil, 2022).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BRUCELOSE

2.1.1 Histórico da doença

A brucelose foi descrita pela primeira vez no homem, por Marston em 1859, a partir do surgimento de febres ondulantes seguidos de morte, no Mar Mediterrâneo, ocorridos na Ilha de Malta, sendo por isso denominada Febre de Malta (NICOLETTI, 2002; POESTER et al., 2009). No Brasil, foi relatado pela primeira vez no ano de 1913 por Gonçalves Carneiro e, no ano seguinte, em 1914, Danton Seixas realizou pela primeira vez no país, o diagnóstico clínico da brucelose bovina, no estado do Rio Grande do Sul (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; VIEIRA, 2004).

2.1.2 Etiologia

A brucelose é uma doença bacteriana altamente contagiosa, zoonótica e economicamente importante de animais em todo mundo, sendo considerada pela Organização para Alimentação e Agricultura (FAO), pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pelo Office International des Epizooties (OIE) como umas das zoonoses mais generalizadas no mundo (SCHELLING et al., 2003). A doença em bovinos, é geralmente causada por *Brucella abortus* e ocasionalmente por *Brucella melitensis* e *Brucella suis*, sendo caracterizada por infertilidade, aborto tardio, redução da produção de leite, como resultado da retenção de placenta, endometrite secundária e excreção dos organismos nas secreções uterinas e no leite. Cargas bacterianas importantes estão presentes em fetos abortados e membranas fetais (XAVIER et al., 2009), no qual favorece a transmissão da doença no rebanho. Além disso, a infecção por *B. abortus* também está associada à mastite intersticial, muitas vezes subclínica, que está relacionada à eliminação do organismo no leite, o que representa perigo para saúde e para o consumo humano de produtos lácteos não pasteurizados.

A doença pode ser transmitida pelo contato direto ou indireto com animais infectados e anexos fetais e, ainda, veiculada ao homem pela ingestão de produtos de origem animal contaminados, principalmente leite e seus derivados que não passaram por processamento térmico. Pode ser veiculada também por meio de carnes cruas e pela própria manipulação de carcaças e vísceras durante o abate sanitário (SOLA et al., 2014).

As bactérias do gênero *Brucella* pertencem à classe Proteobacteria, são Gram-negativas, intracelulares facultativas, imóveis e não esporuladas. Apresentam-se na forma de bastonetes curtos que medem de 0,6 a 1,5 µm por 0,5 a 0,7 µm de dimensão

(VELASCO et al., 2000; REDKAR et al., 2001; PROBERT et al., 2004). Segundo PAJUABA, (2006); OIE, (2009), São considerados microrganismos aeróbios, porém uma atmosfera com tensão de 5 a 10% de CO₂ favorece o isolamento de algumas espécies. Apresentam temperatura de multiplicação na faixa de 20 a 40°C, sendo 37°C a temperatura ideal, e um pH ótimo de 6.6 a 7.4.

Dentre as bactérias desse gênero, são descritas dez espécies independentes, sendo classificadas principalmente por diferenças de patogenicidade, preferência de hospedeiro, características bioquímicas e antigênicas. As espécies de *Brucella* e seus biovars são diferenciadas por meio de testes como a sorotipagem, tipificação de fagos, requerimentos de CO₂, sensibilidade a corantes, produção de H₂S, além das propriedades metabólicas (ALTON et al., 1988; PAJUABA, 2006; OIE, 2009).

As principais espécies do gênero são a *B. melitensis* (isoladas em cabras, ovelhas e camelos), *B. abortus* (bovinos e bubalinos), *B. suis* (suínos e javalis), *B. neotomae* (ratos do deserto), *B. ovis* (ovelhas) e *B. canis* (cães), as quais são subdivididas em sete biovars ou biotipos para *B. abortus* (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 9), três para *B. melitensis* (1, 2 e 3) e cinco para *B. suis* (1, 2, 3, 4 e 5) (MORENO et al., 2002; FOSTER et al., 2007; SCHOLZ et al., 2008).

A *Brucella spp* possui uma ampla capacidade de sobrevivência em ambientes que apresentam condições de umidade, abrigo de luz solar direta, pH neutro, temperatura e matéria orgânica (embora apresente exigência quanto à multiplicação *in vitro*), podendo resistir em pastagens, fetos abortados, anexos fetais e fezes úmidas por longos períodos (CARVALHO et al., 1995; PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006; OIE, 2009).

Segundo PAULIN & FERREIRA NETO, (2003); LAGE et al., (2008); OIE, (2009), todas as espécies do gênero são sensíveis ao calor e à acidez, e quando submetidas à ação de desinfetantes comuns, como soluções de formaldeídos a 2%, produtos clorados (2,5% de cloro ativo), compostos fenólicos a 2,5% e permanganato de potássio (1:5000), a eliminação de *Brucella spp* ocorre em, no máximo, 15 minutos. O álcool a 70% destrói imediatamente as bactérias enquanto o carbonato de cálcio (1:10) as elimina em 30 minutos.

A sobrevivência de *Brucella spp* no leite e produtos lácteos depende da temperatura, pH e da presença de outros microrganismos que possam inibir a multiplicação, podendo permanecer no alimento de 15 a 90 dias (CARVALHO et al., 1995; PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006). Em carnes, a bactéria pode manter-se viável durante meses, sendo pouco afetada pela acidificação muscular, refrigeração ou congelamento. Além do

calor, a eliminação do agente só ocorre em situações de pH inferior a 4 (PESSEGUEIRO et al., 2003).

A refrigeração inibe a multiplicação, porém a viabilidade é mantida mesmo em temperatura de congelamento. No entanto, a fervura, processos de pasteurização e os métodos de esterilização são eficazes na eliminação do microrganismo (CARVALHO et al., 1995; PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006).

2.1.3 Patogenia

A patogenicidade das bactérias do gênero *Brucella* está relacionada com os mecanismos que permitem sua invasão, sobrevivência e multiplicação intracelular nas células do hospedeiro, mantendo-as protegidas da ação do sistema imune (ARÉSTEGUI et al., 2001; NIELSEN et al., 2004; XAVIER et al., 2009).

A infecção natural se inicia principalmente pelas mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival ou por solução de continuidade da pele, sendo que a porta de entrada principal da bactéria em bovinos é a mucosa orofaríngea (BISHOP et al., 1994; GORVEL & MORENO, 2002; CAMPANÃ et al., 2003; RIBEIRO et al., 2008).

Ao penetrar na mucosa, as bactérias são fagocitadas principalmente por macrófagos, sendo carregadas até os linfonodos regionais, onde se multiplicam e podem permanecer por semanas ou até meses, levando também à hiperplasia e linfadenite (BISHOP et al., 1994; LAGE et al., 2008; NETA et al., 2009).

A partir dos linfonodos regionais, os microrganismos podem disseminar-se livremente no interior dos macrófagos, pela via hematogêna ou linfática albergando-se em outros linfonodos, principalmente os supramamários, e em órgãos como baço, fígado e outros tecidos ricos em células mononucleares fagocitárias, podendo sobreviver nestes locais por longos períodos, escapando da resposta imune (HARMON et al., 1988; GORVET & MORENO, 2002; CAMPAÑA et al., 2003; LAGE et al., 2008; LIRA, 2008; MATRONE et al., 2009; XAVIER et al., 2009).

Durante a fase de multiplicação celular, as bactérias podem provocar alterações inflamatórias e anatomopatológicas caracterizadas por granulomas difusos, levando à hiperplasia linfóide, esplenomegalia e até hepatomegalia (BISHOP et al., 1994; LAGE et al., 2008; CAMPOS et al., 2009; MATRONE et al., 2009). De acordo com CORRÊA & CORRÊA (1992), nem todos os órgãos e tecidos invadidos por microrganismos do gênero *Brucella* apresentam alterações evidentes e áreas de necrose.

Os órgãos de predileção do gênero *Brucella* são aqueles que oferecem elementos necessários para o seu metabolismo, como o eritritol - álcool polihídrico de quatro carbonos - presente no útero gravídico, tecidos mamários, osteoarticulares e órgãos do sistema reprodutor masculino, sendo importante ressaltar que humanos, equinos, coelhos e roedores possuem ausência ou baixa produção do eritritol, fato este que justificaria o reduzido impacto da brucelose no aparelho reprodutivo nestas espécies (CARTER & CHENGAPPA, 1991; RIBEIRO et al., 2008; XAVIER et al., 2009).

Segundo SILVA et al., (2005), a infecção do útero gestante ocorre por via hematogêna e as alterações variam de acordo com a intensidade da infecção e o tempo de gestação. A afinidade das brucelas pelos trofoblastos parece estar relacionada à presença de elevadas concentrações de eritritol e progesterona na placenta. Em bovinos, essas concentrações de eritritol se altera gradativamente de acordo com o período gestacional, atingindo níveis máximos próximos ao parto, aumentando a capacidade de infecção e multiplicação dos microrganismos (CARTER & CHENGAPPA, 1991; LAGE et al., 2008).

A evolução do processo inflamatório leva a lesões necróticas-inflamatórias na placenta além de lise das vilosidades, resultando no descolamento dos cotilédones; prejuízo na circulação materno-fetal, dificultando e até mesmo impossibilitando a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto, provocando assim danos que variam de nascimento de bezerros subdesenvolvidos ao aborto (BISHOP et al., 1994; PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2008; XAVIER et al., 2009).

Animais contaminados transmitem a bactéria através do parto ou aborto, vale ressaltar que as fêmeas após o primeiro aborto, tornam-se portadoras crônicas, eliminando o agente no leite, urina e descargas uterinas durante os próximos partos, abortando ou não (PACHECO, 2007; MIYASHIRO, 2004). Segundo PAULIN & FERREIRA NETO (2004), a partir da terceira gestação do animal infectado, os abortos não ocorrem, devido a imunidade celular e a redução de necrose dos placentomas, permitindo assim o nascimento de bezerros.

A principal fonte de infecção para animais suscetíveis se dá pela quantidade de microrganismos eliminados durante o aborto ou parto de animais infectados, associada à ampla resistência do agente no ambiente. O próprio hábito dos bovinos de lambem e cheirar as crias ou fetos abortados, favorece a transmissão de brucelose (NICOLLETTI, 2002; SILVA et al., 2005; MINHARRO, 2009).

A participação dos machos na transmissão da brucelose pela monta natural é pequena não se caracterizando como a forma mais frequente, embora a maioria das espécies de

Brucella spp seja encontrada no sêmen. Na monta natural, a vagina apresenta barreiras inespecíficas que dificultam a infecção, entretanto, cuidados especiais devem ser tomados com a inseminação artificial, visto que o sêmen é aplicado diretamente no útero, onde não existem barreiras inespecíficas, tornando-se um ambiente propício para multiplicação do agente (BRASIL, 2006; LAGE et al., 2008).

A transmissão entre animais também pode ocorrer entre fômites, destacando-se a água e alimentos contaminados (ACHA & SZYFRES, 2001). Este gênero sobrevive no ambiente, mas não se multiplicam nele. Possui ampla capacidade de sobrevivência, porém necessita de condições como presença de sombra, umidade, baixas temperaturas e pH neutro (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006; OIE, 2009).

Várias espécies domésticas ou silvestres são suscetíveis à infecção por *Brucella spp*, porém, não transmite o agente novamente aos bovinos, pois são consideradas apenas hospedeiros finais da infecção. Os bovinos são hospedeiros preferenciais da *B. abortus*, porém bubalinos, equinos, suínos, ovinos, caprinos e cães podem ser infectados (LAGE et al., 2008; MINHARRO, 2009). Outras espécies como *B. melitensis* e *B. suis* também podem causar brucelose em bovinos devido ao convívio com cabras ou ovinos e suínos, nos quais são os reservatórios naturais desses agentes (ACHA & SZYFRES, 2001; OIE, 2009).

Segundo PAULIN & FERREIRA NETO (2003), os cães de fazenda não são considerados como os principais reservatórios de *B. abortus*, porém, podem ser responsáveis por disseminar a doença, carreando produtos de aborto. Além disso, o agente pode ser isolado dos cães quando há presença de bovinos infectados, devendo ser incluídos nos programas de controle e erradicação da doença.

Diante a inspeção sanitária realizada por inspetores veterinários em abatedouros e frigoríficos, o julgamento de carcaça e vísceras de bovinos suspeitos de brucelose é realizado mediante a observação macroscópica de lesões sugestivas da enfermidade, não dispondo de meios de diagnóstico específicos que possam ser associados diretamente às alterações observadas nos exames sanitários com a infecção brucélica (FREITAS & OLIVEIRA, 2005). As bursites de cernelha de bovinos são de difícil visualização à inspeção *ante mortem*, sendo o diagnóstico macroscópico realizado durante a inspeção *post mortem*, por inspetores veterinários (PARDI et al., 1956; LANGENEGGER et al., 1975; ALMEIDA et al., 2000).

Segundo BRASIL, (2006); PAULIN & FERREIRA NETO, (2008), os humanos normalmente são infectados pelo contato direto do agente com mucosas ou soluções de continuidade da pele, pela manipulação de tecidos, sangue, urina, secreções vaginais, fetos

abortados e envoltórios fetais provenientes de animais infectados ou pela ingestão da bactéria em alimentos, geralmente de leite cru ou derivados lácteos não pasteurizados (queijos, manteigas, iogurtes, sorvetes) além de carnes cruas, mal assadas ou cozidas, obtidas de animais infectados.

Segundo LAGE et al., (2008); MINHARRO, (2009); OIE, (2009), esta zoonose pode ser considerada uma enfermidade de caráter ocupacional, pois ela afeta profissionais que desenvolvem atividades com maior risco de exposição ao agente. A capacidade de penetração pela pele íntegra ou lesada e pelas membranas mucosas, além da formação de aerossóis, predispõe os tratadores, veterinários, laboratoristas, trabalhadores de matadouros-frigoríficos e entrepostos de leite ao risco de infecção (LAGE et al., 2008).

A carne não constitui importante fonte de veiculação de brucelose visto ao número reduzido do agente, porém traz riscos se estiver pouco cozida ou mal passada. A medula óssea e vísceras mal cozidas também se constituem em importantes fontes de infecção humana (LANGENEGGER et al. 1975; PARDI et al. 2006).

Sob o ponto de vista epidemiológico, a transmissão entre pessoas é considerada insignificante, porém, a literatura relata casos de transmissão por meio de transfusão de sangue, transplante de medula e até por relação sexual (GODFROID et al., 2005; MINHARRO, 2009).

2.1.4 Sinais Clínicos

Os principais sintomas em fêmeas positivas se dá pelo aborto a partir do 5º mês de gestação nos animais susceptíveis e não imunizados. Nas próximas gestações há maiores chances de nascimento de animais debilitados, podendo ocorrer diminuição da taxa de concepção, retenção de placenta, infecções uterinas, subfertilidade e consequentemente infertilidade (BANDEIRA, 2011; TERRA, 2017).

Os machos podem apresentar aumento do volume dos testículos de forma uni ou bilateral, além dos epidídimos, ampolas e vesículas seminais. Devido à reação inflamatória do tipo necrosante, podendo haver atrofia do órgão afetado, levando a quadros de subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (GORVEL & MORENO, 2002; PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2008; NOZAKI, 2008).

Os sintomas mais frequentes em humanos são febre intermitente, dores musculares, articulares, cefaléia e sudorese, podendo ser geralmente confundida com gripe recorrente.

Complicações como endocardite e problemas articulares podem ocorrer, porém de menor frequência (SILVA et al., 2005; AL DAHOUK et al., 2007).

2.1.5 Diagnóstico

Os métodos de diagnóstico indireto ou sorológicos, são de extrema importância no diagnóstico da brucelose, sendo utilizado nas campanhas de controle e erradicação da doença em bovinos e bubalinos (OLIVEIRA, 2003).

Os testes sorológicos são utilizados para detectar os anticorpos contra *Brucella spp* presentes em diversos fluidos corporais como soro sanguíneo, muco vaginal, sêmen e leite. Na escolha do método sorológico, é levado em consideração o tamanho e as características da população a ser analisada, a situação epidemiológica da doença, a sensibilidade e a especificidade dos testes e principalmente se há utilização de vacinas no rebanho (POESTER et al., 2005).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), definiu como testes oficiais o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o teste de Anel em Leite (TAL), como provas de triagem. Já como testes confirmatórios estabeleceu o teste do 2- Mercaptoetanol (2-ME) e a reação de Fixação do Complemento (FC) para detecção de antígenos pelo emprego de anticorpos específicos, com o objetivo de detectar uma exposição prévia do animal ao agente (BRASIL, 2006).

A sorologia empregada para o diagnóstico da brucelose identifica os anticorpos específicos presentes no soro sanguíneo dos animais infectados, baseando nos antígenos de superfície bacteriana, compostas com polissacarídeos (LPS) e proteínas de membrana externa (ALTON et al., 1988; RAJASHEKARA et al., 2005; MINHARRO, 2009).

Segundo COSTA, (2001); OLIVEIRA, (2003), os testes sorológicos não apresentam sensibilidade absoluta, havendo a necessidade de associação entre várias técnicas em busca de melhores resultados na detecção de animais positivos, sobretudo na fase inicial da infecção e em infecções crônicas. Nestes testes, podem ocorrer reações inespecíficas, decorrentes do compartilhamento de epítomos com outros gêneros bacterianos ou até mesmo envolvendo imunoglobulinas da classe IgM, provenientes da vacinação contra brucelose, gerando falso-positivos (ALTON et al., 1988; COSTA, 2001; MINHARRO, 2009).

Alguns métodos de diagnóstico direto de brucelose podem ser utilizados, incluindo a identificação e o isolamento do agente causador, sendo estes a imunohistoquímica e os métodos de detecção de ácidos nucleicos, sendo esse a reação de cadeia de polimerase (PCR)

(SOLA et al., 2014). Estes métodos são utilizados após os animais manifestarem os sinais clínicos, ou seja, quando a bactéria já está disseminada no rebanho, sendo de extrema importância meios de confirmação da doença. (VEJARANO RUIBAL, 2009; MATRONE, 2009).

No diagnóstico direto, também pode ser realizado o cultivo da bactéria, sendo esse, material oriundo de abortos ou secreções como leite, sêmen ou líquidos sinoviais provenientes de articulações comprometidas (CARTER & CHENGAPPA, 1991; NIELSEN, 2004; LAGE et al., 2008; VEJARANO RUIBAL, 2009).

Segundo MINHARRO, (2009); OIE, (2009), a brucelose também pode ser isolada e mantida em meios de cultura, sendo esse o ágar sangue desfibrinado de carneiro a 5%, ágar Triptose e ágar *Brucella*. A bactéria necessita de um ambiente microaerófilo, de no mínimo três a cinco dias de incubação, com tensão de CO₂ em torno de 5 a 10%, com temperatura média de 37°C e pH neutro entre 6.6 a 7.4 (MINHARRO, 2009; OIE, 2009).

2.1.6 Profilaxia

Em 2010, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) visando o controle da brucelose, institui no Brasil o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e a Tuberculose Animal (PNCEBT), que tem como objetivo medidas sanitárias, para redução da prevalência e incidência da doença. Diante destas medidas, foi empregada a vacinação de fêmeas, com idade entre três e oito meses, para obtenção do certificado de propriedades livres e monitoradas para a doença (BRASIL, 2006). Além disso, é importante o controle do trânsito de animais de reprodução e a certificação de propriedades livres da enfermidade por meio do diagnóstico, sacrifício dos animais positivos e a adoção de medidas ambientais (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003).

2.2 NEOSPOROSE

2.2.1 Histórico da doença

A neosporose bovina é uma doença infecciosa de expressão mundial e de origem parasitária, causada pelo protozoário *Neospora caninum*, possuindo grande importância econômica devido ao fato de causar abortos nas fêmeas bovinas em diversos países (DUBEY et al., 1996). Apesar de altas prevalências de anticorpos nos animais, a frequência de neosporose clínica tem sido pouco registrada (DIAS et al., 2014).

O protozoário *Neospora caninum* foi descrito pela primeira vez em 1984, na Noruega, onde foram relatados cães com manifestações neurológicas semelhantes à toxoplasmose. No caso citado, foi constatado a presença de taquizoítos, e lesões neurológicas, porém tratou-se como uma doença desconhecida, pois a presença de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* não teria sido detectado (BEJERKAS; MOHN; PRESTHUS, 1984).

Anos mais tarde, em 1988, nos Estados Unidos, foram relatados 5 casos de cães filhotes que apresentaram anormalidades nos membros posteriores de 5 a 8 semanas após o nascimento. Para identificação do agente, foi realizado um experimento no qual constituiu no isolamento de taquizoítos através de cultura *in vitro*, esses foram criopreservados, e posteriormente inoculados em camundongos, apresentando rápida multiplicação sendo relatado e nomeado de *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1989; DUBEY et al., 1996).

2.2.2 Etiologia

O protozoário *N. caninum* pertence ao filo Apicomplexa semelhante ao *Toxoplasma gondii*, porém com diferenças estruturais e antigênicas (DUBEY et al., 1988). As formas encontradas no hospedeiro intermediário são os taquizoítos, que possuem forma ovóide ou globosa, que podem ser encontrados no citoplasma da célula, dentro ou fora do vacúolo parasitóforo. Os cistos possuem forma oval e parede lisa, e no seu interior estão presentes os bradizoítos, podendo ser encontrados nas células do sistema nervoso. Esse parasita possui um ciclo de vida heteroxeno, sendo necessário dois ou mais hospedeiros para completar o ciclo, tendo seu estágio sexual ocorrendo no intestino delgado do hospedeiro definitivo, podendo ser transmitido por meio das fezes (McALLISTER et al., 1998).

O cão e o coioate são hospedeiros definitivos, os quais eliminam os oocistos após a ingestão de tecidos ou órgãos infectados de seus hospedeiros intermediários, como membranas placentárias contaminadas com cistos, sendo estes bovinos, caprinos, ovinos equinos e cervídeos que se infectam pela ingestão de oocistos contaminando o ambiente (BARR, 1998.) Segundo MUGRIDE et al. (1999), no hospedeiro definitivo há uma fase sexuada, já no hospedeiro intermediário a fase é assexuada dada pelo processo de endopoligenia, formando mais de duas células filhas.

O hospedeiro definitivo é infectado ao consumir restos de placenta de animais doentes e alimentos contaminados com parasitas na forma cística oriundos de hospedeiros intermediários. Em seguida ocorre a fase sexuada no hospedeiro definitivo, com sua

multiplicação no intestino e liberação dos oocistos nas fezes. O hospedeiro intermediário se infecta ao ingerir alimentos contaminados com fezes contendo oocistos esporulados.

2.2.3 Patogenia

No estômago do hospedeiro intermediário, os oocistos rompem-se pela ação mecânica liberando os esporozoítos, que invadem os tecidos e sofrem multiplicação assexuada originando taquizoítos móveis, que são encontrados em desenvolvimento dentro de vacúolos parasitófagos (cistos teciduais) de várias células como neurônios, macrofágos, fibroblastos e miócitos (COLLERY, 1996). Segundo DUBEY & LINDSAY (1996), o ciclo é restabelecido quando cistos contendo bradizoítos são consumidos por um hospedeiro definitivo, os quais são encontrados em tecidos nervosos periféricos e centrais, podendo ficar em latência por meses ou ano.

A principal rota de infecção no rebanho é a transmissão vertical (transplacentária) nos bovinos, tendo eficiência de até 95% (GUIMARÃES, 2007). Essa transmissão é responsável pela persistência do *N.caninum* no rebanho, devido à propagação da infecção para sucessivas gerações e em prenhezese consecutivas (DUBEY, 2003; GUIMARÃES, 2007).

Horizontalmente, os animais também podem se infectar pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes do cão. Esta via parece ser necessária para a manutenção e introdução de novas infecções no rebanho. Além disso, estudos têm sugerido a transmissão lactogênica (via colostro) (HALL et al., 2005; GUIMARÃES, 2007; MOSKWA et al., 2017). SERRANO-MARTINEZ et al., (2007) também demonstraram a indução da infecção em vacas inseminadas com sêmen bovino contaminado experimentalmente com taquizoítos do parasita.

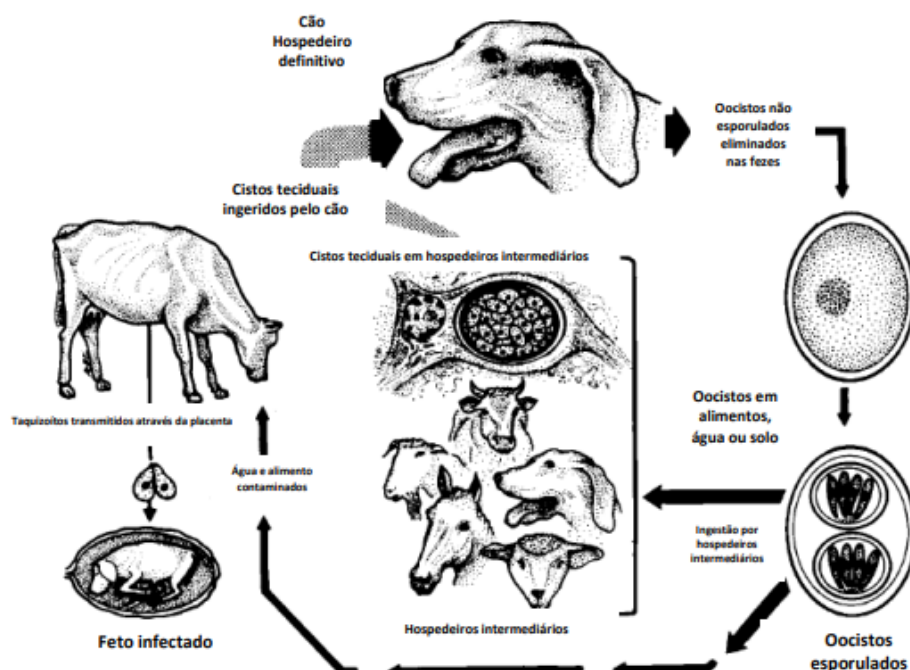


Figura 1: Ciclo biológico do *N. caninum*. Adaptado de DUBEY (2003).

A probabilidade de vacas soropositivas abortarem é maior do que aquelas que são soronegativas (DAVISON et al., 1999). Estas observações sugerem reativação de uma infecção persistente estabelecida, possivelmente desencadeada pela baixa regulação da imunidade celular mediada que ocorre em meados da gestação (INNES et al., 2005). A evidência indica que em animais persistentemente infectados o parasita é confinado para o sistema nervoso central (SNC) e músculo esquelético, na forma de bradizoítos dentro de cistos nos tecidos onde está em equilíbrio com a barreira do sistema imune (DUBEY et al., 2006).

Após a parasitemia, o parasita é capaz de estabelecer-se nas carúnculas do septo materno antes de atingir as vilosidades da placenta fetal (MALEY et al., 2003; MACALDOWIE et al., 2004). Para que o aborto ocorra, o feto ou placenta têm que estar danificados até que estejam inviáveis, sendo que vários fatores podem interagir para influenciar nesse processo. A indução placentária pelo parasita pode colocar em risco a sobrevivência do feto diretamente, ou causar a liberação de prostaglandinas maternas, que por sua vez causam luteólise e aborto. O dano fetal pode ocorrer devido a danos no tecido primário causados pela multiplicação de *N. caninum* no feto, ou devido à insuficiência de oxigenação /nutrição secundária à lesão placentária. Além disso, a expulsão imunológica

materna do feto pode ocorrer associada com a liberação maternal de citocinas pró-inflamatórias na placenta (DUBEY et al., 2006)

O início da infecção placentária coincide com a entrada do parasita na corrente sanguínea fetal e consequente invasão dos tecidos, com uma predileção pelo SNC. Inicialmente o parasita é localizado em volta dos vasos sanguíneos e, no feto mais jovem, sua multiplicação descontrolada pode causar neuropil (filamentos de neurópilo), com pouca ou nenhuma inflamação (DUBEY et al., 2006)

Durante o primeiro trimestre de gestação o feto é particularmente vulnerável à multiplicação da parasitemia, quando o timo, o baço e os nódulos linfáticos periféricos são formados primeiro, mas esses tecidos começam a reconhecer e responder a micro-organismos somente no terço médio de gestação (OSBURN, 1986).

2.2.4 Sinais clínicos

O abortamento é o sinal clínico mais evidente da infecção, portanto; se a infecção intrauterina ocorrer no início da gestação, antes do desenvolvimento do sistema imune fetal, esta causará morte embrionária. Já a infecção no terço médio da gestação resultará em abortamento ou nascimento de um bezerro persistentemente infectado (PI). Se ocorrer no período final da gestação, acontecerá o parto normalmente, porém o bezerro pode ser congenitamente infectado, podendo esta infecção se repetir em gerações futuras (GUIMARÃES, 2007).

Além da ocorrência de aborto precoce, a doença em vacas de corte é relacionada ao nascimento de bezerros prematuros com peso reduzido. Conforme o grau de prematuridade, esses bezerros podem ser mantidos vivos por meio de monitoramento intensivo durante o período neonatal (RADOSTITS et al., 2002). Vacas infectadas apresentam diminuição na produção de leite já na primeira lactação. (FERRE et al., 2003).

Nos bezerros, os membros posteriores podem se apresentar flexionados ou hiperestendidos, além de apresentarem dificuldade de se levantar e manifestações nervosas (FERRE et al., 2003).

As manifestações clínicas variam dependendo da idade do feto, do estágio de desenvolvimento do sistema imune, tempo de exposição ao parasita e distribuição das lesões no SNC (ANDERSON et al., 1997).

2.2.5 Diagnóstico

Para se chegar a um possível diagnóstico, a história clínica de problemas reprodutivos no rebanho e sua associação com a pesquisa sorológica são de grande importância (PAZ et al., 2007). O diagnóstico de suspeição baseia-se nas lesões fetais reveladas pela microscopia e soropositividade da mãe, porém o diagnóstico definitivo requer a demonstração do protozoário em tecidos fetais e associação a exames sorológicos dos rebanhos (RADOSTITS et al., 2002).

Os testes diagnósticos utilizados atualmente são: imunofluorescência IFI, teste imunoenzimático (ELISA) e teste de imuno-histoquímico. Os dois primeiros indicam exposição do animal ao agente, não necessariamente significando que os mesmos estão doentes (ANDREOTTI, 2001).

Segundo DUBEY (2003), o exame histológico dos tecidos fetais é a técnica de referência para diagnóstico em fetos abortados. Quando não for possível enviar o feto inteiro, as amostras a serem remetidas são cérebro, coração, fígado e placenta (DE MEERSCHAM et al., 2002).

São inúmeros os estudos epidemiológicos de infecção por *N. caninum* realizados por meio de testes sorológicos (HEMPHILL & GOTTSTEIN, 2000). Porém suspeita-se que a identificação de animais soropositivos para *N. caninum* pode ser prejudicada devido à reatividade cruzada com outros protozoários Toxoplasmatíneos, principalmente *N. hughesi* e *Hammondia heydorni* (GONDIM et al., 2009).

Não há teste sorológico disponível, até o momento, capaz de discriminar anticorpos anti-*N. caninum* de anticorpos anti-*N. hughesi*. É desconhecido o potencial de *N. hughesi* de infectar outras espécies animais, portanto, os inquéritos sorológicos realizados para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum* podem, em parte, corresponder a infecções por *N. hughesi* (GONDIM et al., 2009).

Portanto, segundo GONDIM (2008), sabendo-se que os testes sorológicos são utilizados frequentemente para a identificação de animais infectados ou expostos ao parasito, deve-se levar em consideração que tais testes podem estar falhando em detectar animais expostos ao *N. caninum*.

Para confirmação de infecção por *N. caninum*, também é necessário diferenciá-la de *Sarcocystis* sp. e de *T. gondii*, através dos métodos imuno-histoquímico ou por PCR, que podem causar lesões similares em fetos. Além disso, em casos de abortos e morte perinatal, doenças como brucelose, campilobacteriose, tricomoniase, leptospirose, rinotraqueíte viral

bovina e diarreia viral bovina, listeriose e aborto viral epizootico devem ser pesquisadas (ANDREOTTI et al., 2003).

Segundo TAYLOR et al. (2010), não existe tratamento eficaz para neosporose em bovinos. No entanto, RADOTITS et al. (2002) afirmam que o tratamento estratégico de vacas em gestação com droga antiparasitária adequada pode interromper a infecção, sendo uma medida eficaz em animais de corte, mas não permitido para vacas de leiteiras em lactação devido à possibilidade do aparecimento de resíduos no leite.

Um estudo exploratório por KRITZNER et al. (2002) avaliaram a eficácia de toltrazuril sulfona em bezerros infectados experimentalmente com *N. caninum* e provaram essa eficácia. No estudo a medicação foi realizada por via oral com 20 mg/kg de peso corporal, utilizando-se uma suspensão de 5%. A primeira dose foi aplicada 24 horas após a infecção, sendo repetida a cada 24 horas subsequentes, durante seis dias.

2.2.6 Profilaxia

Para um controle efetivo da doença é importante eliminar fetos abortados, membranas fetais, placentas e bezerros mortos, impedindo a ingestão por cães. Além disso, evitar o acesso dos cães às fontes de água, pastagens, galpões e silos onde se armazena alimentos e impedir a entrada de animais positivos no rebanho. Estas medidas reduzem a infecção horizontal na propriedade. A transferência de embriões é uma técnica adequada para reduzir a transmissão vertical, desde que seja realizada em receptoras soronegativas (BAILLARGEON et al., 2001; GUIMARÃES, 2007).

Atualmente não existem vacinas disponíveis no Brasil, porém estudos estão sendo conduzidos. Um estudo realizado no México avaliou a eficácia da vacina inativada (Bovilis Neoguard® - Fabricada pela MSD no México) para *N. caninum*, onde foi dividido dois grupos de vacas prenhas, no qual um grupo recebeu a vacina e após trinta dias foi realizado a segunda dose, e um segundo grupo que não foi vacinado. Foi observado uma taxa de abortamento de 12% nas vacas do grupo vacinadas, enquanto nas vacas do grupo não vacinada a taxa de abortamento foi de 29%.

2.3 TOXOPLASMOSE

2.3.1 Histórico da doença

A toxoplasmose é uma zoonose parasitária, causada pelo protozoário intracelular obrigatório *T. gondii*, de distribuição mundial prevalente em seres humanos e animais. A infecção ocorre geralmente de maneira assintomática, não causando sintomas clínicos na maioria das espécies, porém, em algumas espécies o quadro pode se tornar agudo levando esses animais ao risco de vida (SMITH et al., 2021).

O primeiro caso relatado de infecção natural em bovinos ocorreu em 1953, em Ohio, Estados Unidos (DUBEY, 1986). Em seguida na Alemanha, DUBEY, (1986), descreveu o isolamento do parasito do cérebro, fígado e pulmões de bovinos, que foram inoculados de forma oral e parenteral com oocistos e cistos teciduais.

No Brasil, a primeira tentativa de detecção da doença em bovinos ocorreu por volta de 1969, na cidade de São Paulo (JAMRA et al., 1969). No qual houve uma tentativa mal sucedida de isolar o parasita em cérebros e fígados de 61 vacas supostamente infectadas (DUBEY, 1986; JAMRA et al., 1969).

A *T. gondii* é considerada um grave problema na medicina veterinária, sendo uma das principais causas de perdas reprodutivas em ovinos, caprinos e suínos (FERRA et al., 2020). Embora os bovinos sejam um hospedeiro pobre para a doença, foram relatados infecções naturais e experimentais (DUBEY, 2010; COSTA et al., 2011).

Por serem hospedeiros definitivos, os felídeos são de extrema importância no ciclo do parasita e, portanto os únicos que podem contaminar o ambiente com oocistos, que após esporularem, tornam-se infectantes, contaminando solo, água e vegetação, podendo sobreviver em ambientes úmidos por meses (DUBEY et al., 2020).

Os seres humanos são infectados principalmente pela ingestão de carne mal cozida e contaminada (carne de porco, cordeiro ou veado), consumir também alimentos contaminados por faca, utensílios, tábuas de corte e outros objetos que tenham tido contato com carnes cruas e contaminadas podem ter risco de infecção, além da ingestão de leite de cabra não pasteurizado (DUBEY et al., 2020). Tornando a doença de extrema importância devido ao seu potencial zoonótico (MAIA et al., 2023).

Nos carnívoros a infecção mais comum ocorre por via oral, através do consumo de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais, ou por frutas e vegetais contaminados com oocistos eliminados por felídeos (JONES & DUBEY, 2012; HILL & DUBEY, 2013). Nos Bovinos a transmissão também pode ocorrer via vertical, uma vez que na infecção

experimental realizada por WIENGCHAROEN et al., (2011), as fêmeas grávidas inoculadas abortaram ou deram à luz a filhotes infectados congenitamente e sem sinais clínicos aparente, favorecendo a manutenção do agente no rebanho.

2.3.2 Etiologia

A *Toxoplasma gondii* é um coccídio intracelular obrigatório, que tem a capacidade de infectar a maioria das espécies homeotérmicas e formar cistos teciduais (DUBEY & JONES, 2008). É um protozoário apicomplexo, única espécie do gênero *toxoplasma* pertencente à subfamília Toxoplasmatinae (DUBEY, 2010).

Isolados de *T. gondii* em humanos e animais na América do norte e Europa foram classificados em três linhagens genéticas: Tipo I, Tipo II, Tipo III (HOWE & SIBLEY, 1995). No Brasil, foram analisados um conjunto de dados composto por 125 isolados, obtidos de gatos, galinhas e cães em quatro estados diferentes (PENA et al., 2008). Foram identificados 48 genótipos, entre quais 26 deles tinham um único isolado, enquanto 22 tinham múltiplos isolados em diferentes hospedeiros e diferentes regiões. Quatro dos 22 múltiplos isolados no Brasil, foram caracterizados como linhagens clonais comuns e designados como BrI, BrII, BrIII e BrIV. O BrI foi considerado o isolado mais virulento, seguido por BrII e BrIV sendo intermediário, e por fim o tipo BrIII sendo considerado um isolado não virulento (PENA et al., 2008; HOWE & SIBLEY, 1995).

2.3.3 Patogenia

A infecção por *T. gondii* em bovinos é estabelecida por meio de ingestão de oocistos esporulados provenientes de fontes de água e alimentos como as pastagens (ROBERT-GANGNEUX, 2014). Após a ingestão, a parede do oocisto é digerida com liberação de formas esporozoítos. Os esporozoítos invadem as células epiteliais intestinais se tornando taquizoítos, que em vacúolos parasitários se multiplicam rapidamente por endogonia. Os taquizoítos através da circulação sanguínea e linfática, podendo atingir tecidos extraintestinais, incluindo placenta, além da capacidade de invadir células nucleadas e fetos em desenvolvimento (ROUGIER et al., 2017; TENTER et al., 2000).

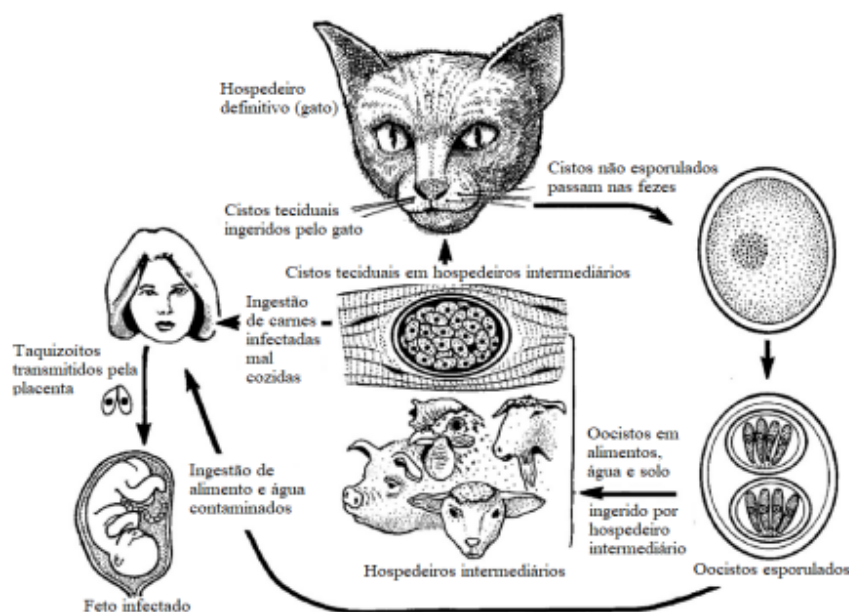


Figura 2: Ciclo biológico do *T. gondii*. Adaptado de DUBEY (2020).

Após a replicação, os taquizoítos deixam a célula hospedeira, destruindo-a. Por se tratarem de organismos livres, eles podem se espalhar, continuando o ciclo, ou iniciam a diferenciação de bradizoítos. Na fase de diferenciação, a membrana do vacúolo parasitóforo dá origem à parede do cisto tecidual, que abriga novas formas do coccídio (DUBEY, 2010). O processo ocorre como uma reação ao desenvolvimento da resposta imune bovina, sendo um período médio de sete a dez dias pós-infecção descritos em relação aos mamíferos (ROUGIER et al., 2017)

Os cistos teciduais nos hospedeiros intermediários são o estágio final do *T. gondii*, podendo permanecer no organismo infectado por período indeterminado (ROUGIER et al., 2017; TENTER et al., 2000). Em um estudo realizado por DUBEY & THULLIEZ (1993), foram isolados *T. gondii* viáveis 1191 dias após a infecção, sendo esses, animais em idade de abate, chegando a conclusão que por motivos ainda não compreendidos, esses ruminantes possuem meios de resistência, sendo capazes de eliminar o parasita ou reduzi-los a níveis indetectáveis em um curto período de tempo (DUBEY, 1986; DUBEY & JONES, 2008).

2.3.4 Sinais clínicos

A maioria das infecções acometidas por *Toxoplasma gondii* ocorre de maneira assintomática ou que explica a propagação da doença em algumas situações, animais acometidos possuem grande quantidade de cistos do parasita em diversos órgãos e músculos, nos quais são detectados em abatedouros ou nos próprios animais (MILLAR, 2008).

Os sintomas clínicos em humanos podem ser bem variados, ocorrendo desde casos como febre e aumento ganglionar, até graves casos de comprometimento do sistema nervoso central, alterações oculares podendo provocar cegueira ou aborto (FIALHO et al., 2009).

2.3.5 Diagnóstico

O diagnóstico direto de *T. gondii* em bovinos pode ser realizado por meio de análise histológica, PCR e bioensaios em gatos e camundongos. Os bioensaios em gatos são considerados o método padrão ouro, por serem hospedeiros definitivos esses animais possuem uma grande susceptibilidade ao protozoário (OIE, 2017).

O diagnóstico indireto é frequentemente usado para determinar a exposição de ruminantes ao parasito, nesse caso, o conhecimento sobre a sensibilidade e especificidade dos métodos indiretos para diagnosticar a presença de *T. gondii* em bovinos é limitado (DUBEY & JONES, 2008).

Dentre as técnicas sorológicas disponíveis, o teste de Sabin-Feldman (teste de corante), tem sido indicado para humanos, tendo poucos resultados confiáveis nos bovinos (DUBEY & JONES, 2008). Os testes de aglutinação modificado (MAT), o teste de anticorpo de fluorescência indireta (RIFI) e o ensaio enzimático (ELISA) têm sido utilizados na confirmação da exposição dos bovinos ao agente, sendo utilizados principalmente para estudos de vigilância epidemiológica (OIE, 2017). Segundo CARMO et al., (2017), dos 35 estudos realizados no Brasil, 24 utilizaram a RIFI como método de diagnóstico.

2.3.6 Profilaxia

Não há tratamento ou vacinação para bovinos, portanto é importante priorizar o controle da enfermidade no rebanho. A sorologia é importante para a verificação de animais positivos e negativos sendo uma ferramenta útil para separação física dos negativos, evitando assim casos futuros (EPAGRI, 2023). Manter vetores da doença como gatos e roedores afastados das fazendas e dos galpões nos quais são armazenados ração se torna um meio de diminuir a contaminação ambiental por oocistos (KIJLSTRA; JONGERT 2008).

Também não há vacinas comerciais contra toxoplasmose em humanos que possam prevenir a infecção congênita, ou formação de cistos teciduais (JONGERT et al., 2009; ZHOU, 2012). Sendo assim a prevenção se dá pela destruição de cistos pelo preparo adequado da carne, e pasteurização do leite antes de ser consumido.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Atividades de campo

As atividades no campo incluíram coleta de sangue, identificação dos animais, armazenamento e envio de amostras ao laboratório, a coleta foi realizada no setor de bovinocultura da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

3.2 Animais

Foram obtidas 40 amostras de sangue total de bovinos da raça Holandesa, de todas as idades e sexo, do setor de bovinocultura da UFERSA. Além disso, cinco amostras de sangue total de gatos errantes que frequentavam o setor também foram obtidas. Foram coletados 10 ml de sangue de cada bovino por punção da veia jugular ou mamária e 3 ml de cada felino, por punção da veia cefálica ou jugular por meio de agulhas descartáveis e tubo sem anticoagulante. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 20000 RPM para obtenção de soro sanguíneo, que foram congeladas a uma temperatura de -20°C até o seu processamento.

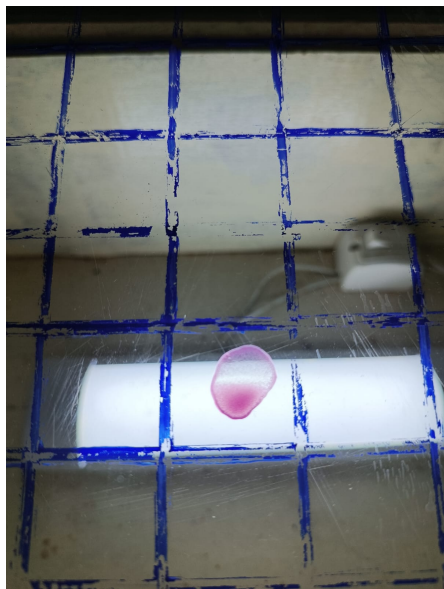
Figura 3: Amostras em tubos anticoagulantes



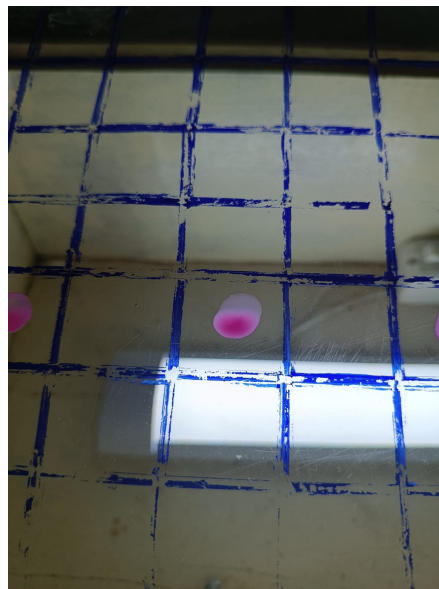
Fonte: Arquivo pessoal

3.3 Testes sorológicos

O teste utilizado para diagnóstico de brucelose foi o do Antígeno Acidificado Tamponado (ATT), realizado em um laboratório particular de acordo com o manual técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (BRASIL, 2006).

Figura 4: Teste do AAT não reagente

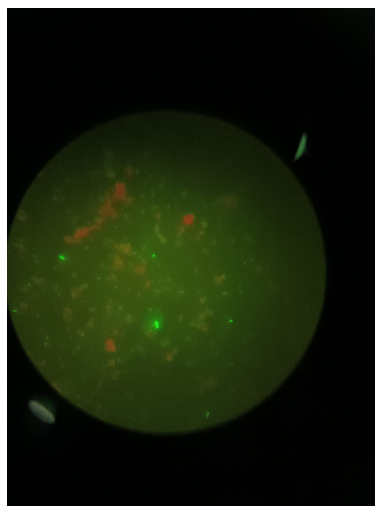
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 5: Teste do AAT reagente

Fonte: Arquivo pessoal

As análises sorológicas foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas (LIDIC) do Hospital Adílio Santos Azevedo (ASA) do Instituto Federal da Paraíba (IFPB), Sousa-PB. Para detecção de anticorpos anti-*T gondii*, as amostras de soro foram submetidas a RIFI, considerando a diluição de 1:64 (SANTOS et al., 2009), como ponto de corte para bovinos e 1:16 para felinos.

Foram realizadas também a detecção de anticorpos anti-*N caninum*. Para tanto, as amostras foram submetidas a RIFI, considerando a diluição de 1:200 como ponto de corte para os bovinos.

Figura 5: Teste de Imunofluorescência Indireta RIFI - Reagente

Fonte: Arquivo Pessoal

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a pesquisa de soroprevalência de Brucelose realizada no rebanho bovino estudado, todas as amostras coletadas resultaram negativas (0/40) para a presença de anticorpos contra *Brucella* spp. Foram analisadas amostras de sangue de um total de 40 animais, utilizando o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) como método de triagem. Apesar de ser um teste de menor sensibilidade. A ausência de animais soropositivos sugere que o rebanho encontra-se livre da infecção, Por se tratar de um rebanho fechado, não apresentam prevalência de brucelose porque esses sistemas reduzem a introdução de animais de fora, o que diminui o risco de introdução da bactéria *Brucella abortus*, causadora da doença, pois o contato com animais positivos é menor, corroborando com o histórico de manejo adequado e controle sanitário implantado na propriedade.

Foi observado uma prevalência de 7,5% (3/40) de bovinos positivos para *T. gondii*, indicando que esse animais tiveram contato com o parasita em algum momento da vida. Em um estudo realizado por MAIA et al. (2023), no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil, foi observado uma prevalência de 49% em nível de rebanho, fatores associados como região, compra de animais e densidade de rebanho foram destacados no estudo.

Até o momento, não foram encontrados estudos que investiguem a prevalência de toxoplasmose em rebanhos bovinos no estado do Rio Grande do Norte. Portanto, este trabalho apresenta o primeiro relato de *Toxoplasma gondii* em bovinos nesta região.

A prevalência de anticorpos *anti-T. gondii* encontrados em nosso estudo foi relativamente baixa em comparação com o encontrado em outros estudos em diferentes regiões do Nordeste, fatores associados como sistema de criação podem estar diretamente relacionados ao resultado obtido. O sistema de criação intensivo consiste no confinamento de grupos de animais, onde a alimentação e água são ofertados diretamente em cochos, o que poderia dificultar o contato desses animais com o parasita.

Tabela 1: Distribuição de titulação de bovinos e felinos reagentes para *T.gondii*

Soropositividade em Bovinos					
Titulação	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
Total (%)	2 (66,6)	1 (33,3)	0	0	0
Soropositividade em Felinos					
Titulação	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
Total (%)	4 (100)	2 (50)	0	0	0

Nas amostras obtidas dos felinos que frequentam o ambiente, foi observado uma prevalência de 80 % (4/5) para toxoplasmose. Por serem hospedeiros definitivos do parasita, os felinos são fonte de oocistos que contaminam o ambiente, mas a baixa soropositividade nos bovinos pode indicar que o alimento desses animais não está sendo contaminado pelos felinos. Como zoonose, a toxoplasmose representa um risco para a saúde pública, enfatizando a importância do controle dos felinos errantes no ambiente bovino.

A prevalência observada para *Neospora caninum* nas amostras obtidas dos bovinos, foi de 2,5% (1/40), resultado relativamente baixo, semelhante ao um estudo realizado por Melo et al., (2017), no estado da Paraíba, onde foram utilizados soros sanguíneos de 220 vacas em 21 fazendas, onde a prevalência de anticorpos anti-*N.caninum* foi de 12,27% entre as vacas e 57,14% das 21 propriedades rurais estudadas pelo menos uma vaca foi positiva.

A presença de cães em propriedades rurais é um fator de risco para transmissão do agente etiológico (VANLEEUEWEN et al., 2010). Porém outros fatores de risco como densidade do rebanho e, principalmente, práticas incorretas de manejo, controle sanitário e outras falhas de gestão podem aumentar o risco de neosporose no rebanho (Dubey et al., 2017).

A baixa taxa de abortos no rebanho sugere que falhas reprodutivas podem ser atribuídas a outros fatores, como nutrição inadequada, condições ambientais desfavoráveis ou outras questões sanitárias.

Tabela 2: Distribuição de titulação de bovinos reagentes para *N.caninum*

Soropositividade em Bovinos					
Titulação	1:200	1:400	1:800	1:600	1:3200
Total (%)	1 (100)	0	0	0	0

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Doenças reprodutivas como Brucelose, Neosporose e Toxoplasmose representam um desafio significativo, tanto para saúde animal como humano, trazendo altos índices de abortos, redução da fertilidade e morte de fetos, resultando em prejuízos econômicos consideráveis para o produtores.

Além dos impactos da produção, a baixa notificação e subdiagnóstico dessas doenças agravam cada vez mais o problema, dificultando o controle e a prevenção em escala nacional e regional.

REFERÊNCIAS

- Alfieri, A. A et al. Doenças infecciosas que impactam a reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.41, n.1, p.1, 2017.
- Antoniassi, N. A. B et al. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 33, p. 155, 2013.
- Amaral, J. B et al. Doenças que acometem a reprodução de bovinos no cenário da medicina veterinária legal: Revisão. **Pub Vet**, v.18, n.01, p. 01, 2014.
- Batista, A. S et al. Doenças infecciosas reprodutivas que acometem vacas de corte. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v.12, p.5, 2023.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - Departamento de Saúde Animal, 2006. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) – Manual Técnico**. Brasília: MAPA / DAS / DSA, p. 36, 2006.
- Dias, L. R. O et al. Doenças parasitárias reprodutivas em bovinos - Neosporose. **PUBVET**, Londrina, v.8, n. 3, Ed. 252, Art. 1671, 2014.
- Fialho, C. G. et al. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. 37 (1), 2009.
- Gomes, D. F. C et al. *Toxoplasma gondii* in cattle in Brazil: a review. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, 29 (1), 2020.
- Hurtado, C. B. Neosporose em bovinos: Revisão de literatura. **Repositório Institucional RIUNIR**. 2022.
- Maia, A. E. A et al. Herd-level based seroprevalence and associated factors for *Toxoplasma gondii* in cows in the state of Paraíba, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.32, p. 2-3, 2023.
- Melo, L. R. B et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and cattle and dogs from The Agreste region of the state of Paraíba. **Acta veterinaria Brasilica**. v. 57 - 62, 2017.
- Paula, E. M. N. Principais doenças infecciosas e parasitárias de importância em medicina veterinária. **Editora Amplla**, 233 p. 2021
- Possa, M. G et al. Epidemiology and economic impact of brucellosis in the municipality of Santa Catarina state, **Brazil. Research, Society and Development**, v.10, n.3, 2021.
- Santos, R. L et al. Perdas econômicas devido a Brucelose bovina no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 33 (6): p.759-764, 2013.
- Silva, C. M et al. Toxoplasmosis and zoonotic aspects in a one health approach. **Cuadernos de educación y desarrollo**, v. 16, n. 10, p. 01-26, 2024.

Sola, M. C et al. Brucelose bovina: Revisão. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.10, n.18; p.688, 2014.

Toé E. F. P. et al. *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*: revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**. v.26, n.1, p. 163-276, 2023.

