

## *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*

*Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v.6, n. 1, p. 160-195, 2019*

### **Uma revisão sobre três importantes agentes causadores de aborto em bovinos: *Neospora caninum*, *Leptospira* sp. e *Trypanosoma vivax***

*(A review of three important agents causing abortion in cattle: *Neospora caninum*, *Leptospira* sp. and *Trypanosoma vivax*)*

**SNAK, Alessandra<sup>1</sup>; OSAKI, Silvia Cristina<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>. Doutoranda em Ciência Animal na Universidade do Estado de Santa Catarina

<sup>2</sup>. Docente da Universidade Federal do Paraná.

\* Corresponding author: Silvia Cristina Osaki, E-mail address: [silvia\\_cristinao@yahoo.com.br](mailto:silvia_cristinao@yahoo.com.br)

Artigo enviado em:22/09/2017, aceito para publicação em 11/08/2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v6i1.39623>

#### **RESUMO**

A produção de leite no Brasil vem aumentando a cada ano. Atualmente, o país é o quinto maior produtor de leite do mundo. Apesar da grande produção, ela é considerada pequena quando comparado com o número total de bovinos leiteiros no país, demonstrando que a produção de leite por bovino é baixa. Há diversas causas para a baixa produção de leite, sendo uma delas os problemas reprodutivos, esses podendo ser causados por bactérias, vírus, protozoários, além de fatores ambientais e climáticos. Dentre os protozoários, o *Neospora caninum* é um dos que possuem maior importância, atinge vacas de todas as idades e pode ser transmitido vertical ou horizontalmente, tendo como principal sinal clínico os quadros de abortos. Já o *Trypanosoma vivax* é um hemoprotozoário e é transmitido por insetos hematófagos ou agulhas infectadas, causa principalmente quadros severos de anemia e aborto em bovinos, gerando inúmeros prejuízos. No Brasil, o *T. vivax* é endêmico em algumas regiões, como em Minas Gerais e no Pantanal, porém em outros Estados como Paraná e Santa Catarina a doença ainda não foi identificada. Já entre as bactérias responsáveis por problemas reprodutivos em bovinos, a *Leptospira* sp. é uma das mais frequentes, a doença pode ser aguda ou crônica, sendo a forma crônica a mais comum, onde é observado quadros de repetição de cio, abortos e retenção de placenta. Apesar de serem doenças conhecidas atualmente é importante salientar o diagnóstico correto, para a prevenção e controle, evitando assim o aumento no número de casos e os prejuízos.

**Palavras-chave:** aborto, bactéria, bovinos, protozoários

### ABSTRACT

Milk production in Brazil is increasing every year. The country is currently the fifth largest milk producer in the world. Despite the large production, it is considered small when compared to the total number of dairy cattle in the country, demonstrating that the production of milk by cattle is low. There are several causes for low milk production, one of them is reproductive problems, which can be caused by bacteria, viruses, protozoa, and environmental and climatic factors. Among the protozoa, *Neospora caninum* is one of the most important, reaching cows of all ages and can be transmitted vertically or horizontally, with the main clinical sign being the bovine abortion. *Trypanosoma vivax* is a hemoprotozoal and is transmitted by hematophagous insects or infected needles, mainly causing severe anemia and miscarriage in cattle, causing numerous damages. In Brazil, *T. vivax* is endemic in some regions, such as Minas Gerais and Pantanal, but in other states such as Paraná and Santa Catarina, the disease has not yet been identified. Among the bacteria responsible for reproductive problems in cattle, *Leptospira* sp. is one of the most frequent, the disease can be acute or chronic, being the chronic form the most common, where it is observed cases of repeat breeding, miscarriages and retention of placenta. Although they are currently known diseases, it is important to emphasize the correct diagnosis, for prevention and control, thus avoiding an increase in the number of cases and the losses.

**Key words:** abortion, bacterium, bovine, protozoan

### INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira está distribuída por todo o território brasileiro, porém não existe um padrão de produção, ou seja, há propriedades muito tecnificadas com alta produção de leite diária e propriedades de subsistência onde a produção é pequena. A maioria das propriedades produtoras de leite no Brasil são caracterizadas como familiares de pequena e média produção (ZOCCAL et al., 2008).

A bovinocultura de leite vem crescendo cada vez mais, atualmente o Brasil é o quinto maior produtor de leite do mundo, atrás somente da União Europeia, Índia, Estados Unidos e China. Os principais Estados produtores de leite são Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná, respectivamente, sendo a região sul a maior produtora de leite do país (IBGE, 2016).

No Estado do Paraná a região Oeste se destaca como a maior produtora do Estado, nessa região três cidades (Marechal

Candido Rondon, Cascavel e Toledo) possuem uma importância maior, pois estão entre as 15 cidades com maior produção de leite do país (IBGE, 2016).

Apesar do Brasil ser um grande produtor de leite, a produção é baixa quando comparada com o número de bovinos, ou seja, cada bovino produz uma quantidade muito pequena de leite (IBGE, 2016). Um dos principais fatores que contribuem para essa baixa produção, além dos genéticos, são os reprodutivos. A incidência de abortos, natimortos, reabsorção embrionária e repetição de cio contribuem significativamente para a diminuição da produção de leite por vaca durante um ano (DE VRIES, 2006).

Há diversas causas para os problemas reprodutivos em bovinos, podendo ser resultantes da infecção por patógenos ou causas não infecciosas. As principais são: estresse térmico, deficiência nutricional, micotoxinas e infecciosas (HURTADO et al., 2016).

As causas infecciosas são as mais frequentes, porém nem sempre é possível a sua identificação. Os vírus mais frequentemente associados aos abortos são: vírus da diarréia viral bovina (BVDV) (25), herpesvírus bovino tipo 4 (BoHV4),

herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV1), e mais recentemente vírus Schmallenberg. As bactérias mais frequentemente encontradas são *Brucella abortus*, *Chlamydia abortus*, *Coxiella burnetii*, *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo, *Salmonella enterica* sorovar Dublin, *Campylobacter foetus* subesp. Venerealis, e *Listeria monocytogenes*. *Neospora caninum* e *Tritrichomonas foetus* são os parasitas mais recorrentes associados com aborto (DERDOURA et al., 2017).

### ***Neospora caninum***

*Neospora caninum* é um protozoário do Filo Apicomplexa (DUBEY et al., 1988a), seu primeiro relato foi em 1984, quando Bjerkas et al., na Noruega, descreveram casos de cães com sinais neurológicos e com presença de cistos teciduais no sistema nervoso central com morfologia distinta dos cistos de *Toxoplasma gondii*. Até então *Neospora caninum* era confundido com *T. gondii*. Em 1988, *Neospora caninum* foi reconhecido como nova espécie com sinais clínicos mais graves que *T. gondii* para cães (DUBEY et al., 1988b).

Em bovinos, o protozoário foi diagnosticado primeiramente por Parish et

al. (1987) e O'Toole e Jeffrey (1987) em tecidos do sistema nervoso central de um bezerro, porém o diagnóstico definitivo só ocorreu em 1989 quando Lindsay e Dubey desenvolveram um teste imunoistoquímico (IHQ) para identificar o *N. caninum* em tecidos, confirmando a infecção pelo protozoário nos cortes histológicos do estudo de Parish et al. (1987).

Ainda em 1989, foi relatado o primeiro surto de abortamento em rebanho de bovinos associado à neosporose, através da identificação do protozoário utilizando a IHQ no sistema nervoso central dos fetos (THILSTED e DUBEY, 1989). Logo após, em 1992, foi demonstrado que a vaca transmite o protozoário para o feto através da transmissão transplacentária, provocando o aborto (DUBEY et al., 1992).

Em 1998 os cães (*Canis familiaris*) foram identificados como hospedeiro definitivos, sendo comprovado com a realização de um experimento onde os cães eliminaram oocistos do protozoário após se alimentarem com tecidos de camundongos contendo cistos de *N. caninum* (MCALLISTER et al., 1998). A transmissão horizontal do protozoário só foi compreendida em 1999 quando Marez et al. demonstraram que os bovinos podiam se

infectar ingerindo oocistos de *N. caninum* e em 2001, quando Dijkstra et al. demonstraram que os cães eliminavam oocistos do protozoário após ingerirem placenta de vacas soropositivas.

Outros canídeos já foram identificados como hospedeiros definitivos desse coccídio, como coiotes (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004), o cão australiano dingo (*Canis lupus dingo*) (KING et al., 2010) e o lobo cinzento (*Canis lupus*) (DUBBEY et al., 2011). É desconhecido que outros canídeos ou outras espécies animais atuem como hospedeiros definitivos (CAVALCANTI, 2010).

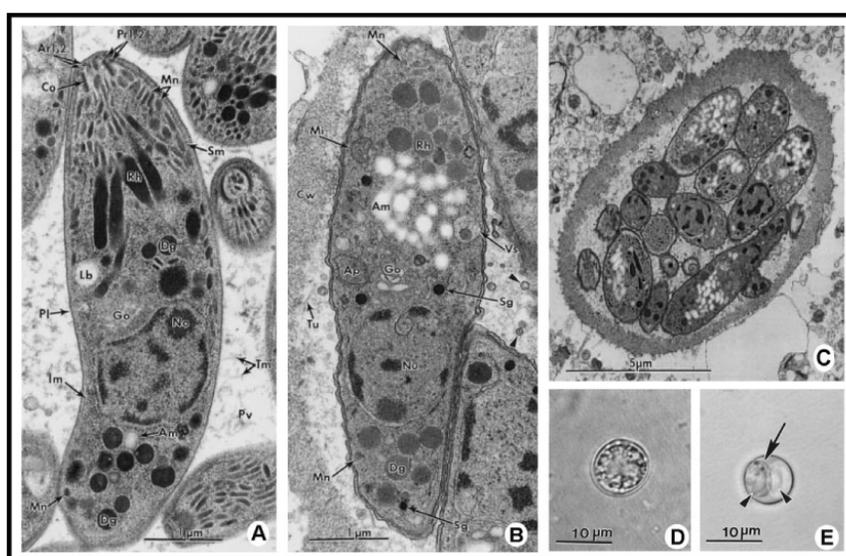
Além de infectar cães e bovinos, esse protozoário pode infectar diversas espécies de animais como felinos, suínos, ovinos, equinos, búfalos, raposas, coiotes, lobos, veados, camelos, psitacídeos, entre outros, porém ainda não está totalmente clara a importância dessas espécies no ciclo do protozoário (DONAHOE et al., 2015).

#### Estrutura e ciclo biológico

*Neospora caninum* é um protozoário heteroxeno, ou seja, precisa de dois hospedeiros para completar o ciclo. Os hospedeiros definitivos são os cães/canídeos silvestres, onde ocorre a reprodução sexuada

do parasito, e os hospedeiros intermediários, onde ocorre a reprodução assexuada, os bovinos são considerados os de maior importância, porém destacam-se outros como ovinos, caprinos, aves e herbívoros silvestres (DUBEY e SCHARES, 2011; GOODSWEN et al., 2013).

O ciclo de vida possui três estágios infecciosos, os taquizoítos, os bradizoítos que estão localizados dentro dos cistos e os esporozoítos que estão no interior dos oocistos (FIGURA 1) (DUBEY et al., 2002).



**Figura 1** - Estruturas de *Neospora caninum*; (A) taquizoíto, (B) bradizoíto, (C) cisto, (D) oocisto não esporulado, e (E) oocisto esporulado com dois esporocistos e quatro esporozoítos. As setas indicam organelas dos zoítas: conóide (Co); apicoplasto (Ap); micronemas (Mn); roptrias (Rh); grânulos densos (Dg); vacúolo parasitóforo (PV). FONTE: Goodswen et al. (2013)

Oocistos não esporulados são eliminados nas fezes dos canídeos, e medem cerca de 11,7 x 11,3μm. A eliminação acontece cerca de cinco ou mais dias após a ingestão de tecido contendo cistos do protozoário. O oocisto só se torna infectante após a esporulação, que acontece por

esporogonia, quando há temperatura, umidade e oxigenação adequada (cerca de 24-48h). O oocisto esporulado possui dois esporocistos e oito esporozoítos (quatro em cada esporocisto) (DUBEY et al., 2007).

Após a ingestão dos oocistos pelos hospedeiros intermediários, os esporozoítos são liberados no trato gastrointestinal, esses

invadem as células do epitélio intestinal, leucócitos e fibroblastos, transformam-se em taquizoítos e multiplicam-se, espalhando-se por todo o organismo do hospedeiro (GOODSWEN et al., 2013).

Os taquizoítos medem cerca de 3-7 x 1-5 $\mu$ m, dependendo do estágio de divisão, eles são ovoides, lunares ou globulares. Invadem células formando um vacúolo parasitóforo no citoplasma, onde vão replicar por endodiogenia (um processo de desenvolvimento assexuado) e podem ser encontrados em macrófagos, endotélio vascular, hepatócitos, células musculares, células neurais e fibroblastos (DUBEY et al., 2002). Estão relacionados principalmente com os sinais clínicos da doença, pois causam destruição de tecido e resposta inflamatória. Cada taquizoíto invade cerca de 20 células antes de se transformar em um bradizoíto, após formam-se os cistos e inicia outra fase do desenvolvimento assexuado do protozoário (GOODSWEN et al., 2013; MONNEY e HEMPHILL, 2014).

Os bradizoítos possuem cerca de 6-8 x 1-1,8 $\mu$ m de tamanho e se multiplicam lentamente por endodiogenia, estão envoltos por um cisto geralmente circular com até 107 $\mu$ m de parede lisa com 4 $\mu$ m de

espessura. Esses são encontrados principalmente no sistema nervoso central e na musculatura do hospedeiro intermediário, podendo persistir por toda a vida sem causar manifestações clínicas (MONNEY e HEMPHILL, 2014; MCALLISTER, 2016).

O ciclo de vida do parasito é completado quando o hospedeiro definitivo ingere tecido contendo os cistos do protozoário, então os bradizoítos são liberados no intestino delgado, invadindo células epiteliais e iniciando a fase sexuada com a formação de oocistos não esporulados, que são eliminados nas fezes (FIGURA 2) (MONNEY e HEMPHILL, 2014).

Outra forma de transmissão é a vertical, onde a mãe infectada acaba transmitindo o protozoário para o feto. Essa forma de transmissão é altamente eficiente e a principal forma de transmissão de *N. caninum* em bovinos, responsável pela manutenção do agente no rebanho. Embora o mecanismo exato da transmissão placentária ainda não é conhecido, sabe-se que os taquizoítos são passados de uma mãe infectada ao feto via placenta e pode causar infecção fetal que pode levar ao aborto (GOODSWEN et al., 2013).



### Patogenia e sinais clínicos

A replicação dos taquizoítos produzem lesões necróticas e morte celular, isso pode gerar doença neuromuscular nos hospedeiros intermediários, devido à destruição de um número grande de células neurais (BUXTON et al., 2002).

A patogenia da *N. caninum* está intimamente associada com a interação hospedeiro-parasito e a produção de proteínas efetoras pelas roptrias e grânulos densos uma vez que modulam a resposta imune do hospedeiro. Muitas proteínas têm sido identificadas como moléculas efetoras que podem interagir com o hospedeiro e seguir diferentes caminhos. As proteínas de roptrias NcROP5 e NcROP16 podem ser fatores de virulência uma vez que a sua redução em camundongos resultou em redução de mortalidade (NISHIKAWA et al., 2018).

O aborto pode ser causado pela morte celular devido à multiplicação do *N. caninum* na placenta, por citocinas que são prejudiciais à manutenção da gestação, mediadores solúveis secretados localmente que permitem que a célula produtora exerça um poderoso efeito local sobre outras

células de origem linfóide e não linfóide, e regulação hormonal. Também há evidências que a infecção placentária e a inflamação podem desencadear a luteólise induzida pela prostaglandina, causando contração uterina prematura e expulsão fecal (ALMERIA et al., 2017).

A maioria dos canídeos são assintomáticos ou possuem diarreia autolimitante após a infecção, porém como eles podem ser hospedeiros intermediários além de definitivos, os sinais podem estar relacionados com lesões no sistema nervoso central, como paresia dos membros posteriores que progride para paralisia. Entretanto, devido à encefalomielite os sinais neurológicos podem ser variáveis (LINDSAY et al., 1999; DONAHOE et al., 2015)

O aborto em bovinos geralmente ocorre entre o quinto e sétimo mês de gestação, porém ele pode acontecer do quarto mês até o fim da gestação, podendo ainda, nascerem bezerros fracos que vêm a óbito logo após o nascimento ou normais congenitamente infectados. São vários os motivos que podem desencadear o aborto, um deles é a lesão causada pela replicação dos taquizoítos no sistema nervoso central e

coração do feto, além da placenta, interferindo no fornecimento de oxigênio e nutrientes ao feto. O aborto, também pode estar associado com a liberação de citocinas pró-inflamatórias e a resposta imune tipo Th1 na interface materno-fetal (CANTÓN et al., 2014; MCALLISTER, 2016).

#### Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico pode ser feito através de técnicas sorológicas, como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), Teste de Aglutinação do *Neospora* (NAT), *Immunoblotting*, Teste de Imunocromatografia Rápida (RIT) e Teste de Aglutinação em Latex (LAT). Ainda pode ser através de métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), métodos de histopatologia, Imunoistoquímica (IHQ) e isolamento, podendo utilizar cultivo celular, camundongos ou gerbils (DUBEY, 2003; ORTEGA-MORA et al., 2006; GUIDO et al., 2016).

O diagnóstico sorológico é uma importante forma de investigação, principalmente epidemiológica da infecção, além de servir como método de triagem e

rastreamento da doença na propriedade. Para o *N. caninum* é o principal método de diagnóstico *ante-mortem* dos animais, porém os métodos existentes variam em sensibilidade e especificidade (QUADRO 1) (GUIDO et al., 2016).

No diagnóstico utilizando a histopatologia é importante não avaliar somente a infecção fetal, mas também a extensão e severidade das lesões no feto (JENKINS et al., 2002). As principais lesões microscópicas encontradas no feto são: encefalite necrosante multifocal não supurativa, miocardite não supurativa, inflamação não supurativa focal em órgãos como músculo esquelético, fígado, pulmão e placenta (GIBNEY et al., 2007; REITT et al., 2007; REGIDOR-CERRILLO et al., 2008). Junto com a histopatologia pode ser utilizada a imunoistoquímica, facilitando a visualização do antígeno. O principal limitante, tanto da histopatologia como da imunoistoquímica, é o estado de decomposição da maioria dos fetos. Esses geralmente chegam para diagnóstico em estado avançado de autólise ou mumificados, o que dificulta a realização de algumas técnicas (MCALLISTER, 2016).

Uma revisão sobre três importantes agentes causadores de aborto em bovinos: *Neospora caninum*, *Leptospira* sp. e *Trypanosoma vivax*

**Quadro 1** - técnicas sorológicas para detecção de *N. caninum* em animais infectados

| Técnica               | Formato e características                                                                                                                                                                                                                 | Comentários                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RIFI                  | Taquizoítos fixados                                                                                                                                                                                                                       | Método de Referência<br>A interpretação dos resultados é subjetiva                                                                                                                                                                  |
| NAT                   | Taquizoítos fixados                                                                                                                                                                                                                       | Específico<br>Execução simples                                                                                                                                                                                                      |
| LAT                   | Esferas de látex revestidas com taquizoítos                                                                                                                                                                                               | Sensibilidade e especificidade parecida com o NAT                                                                                                                                                                                   |
| <i>Immunoblotting</i> | Taquizoítos totalmente fixados                                                                                                                                                                                                            | Demorado e não aplicado para triagem<br>Recomendado para confirmação de diagnóstico                                                                                                                                                 |
| RIT                   | Antígeno recombinante                                                                                                                                                                                                                     | Simple e rápido<br>Aplicado a condições de campo                                                                                                                                                                                    |
| ELISA                 | - ELISA indireto<br>Taquizoítos fixados<br>ISCOM (Complexo imunoestimulante) incorporados ao antígeno<br>- ELISA competitivo<br>Anticorpos monoclonais<br>Anticorpos policlonais<br>- ELISA avidéz<br>Taquizoíto lisado<br>Antígeno ISCOM | Triagem de um número grande de animais<br>Vários <i>Kits</i> disponíveis comercialmente<br>O ELISA avidéz está baseado no princípio de que os primeiros anticorpos produzidos após a infecção possuem menos afinidade pelo antígeno |

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta; NAT: Teste de Aglutinação do Neospora; LAT: Teste de Aglutinação em Látex; RIT: Teste de Imunocromatografia rápida; ELISA: Ensaio de Imunoadsorção Enzimático. FONTE: Guido et al. (2016) modificado

Ainda, como diagnóstico direto pode ser realizado a PCR, essa com alta sensibilidade e especificidade, podendo variar de acordo com o *primer* utilizado, com o tipo de extração de DNA e com os protocolos utilizados dos reagentes e termociclador. Atualmente existem diversos oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) que podem ser utilizados, os principais estão relacionados com os genes pNc5, ITS1, 18S e 28S. A PCR pode ser utilizada também para quantificar o DNA do agente, muito

importante para o desenvolvimento de vacinas e estimar a carga parasitária em estudos epidemiológicos (DUBEY e SCHARES, 2006). A PCR ainda torna-se um importante método para a confirmação da eliminação de oocistos por canídeos, visto que os oocistos de *N. caninum* são morfológicamente similares aos oocistos de *Hammondia* spp., que também podem ser eliminados por essa espécie animal (DUBEY et al., 2002).

O isolamento do parasito pode ser realizado através de cultivo celular ou inoculação em camundongos e gerbils, porém essa é uma técnica difícil e com custos altos, sendo utilizada geralmente para fins de pesquisa (DUBEY, 2003).

### Distribuição

Casos de *Neospora caninum* em cães e bovinos já foram relatados em cinco continentes no mundo, Ásia, África, Europa, Oceania e América (DUBEY et al., 2007; SPILOVSKÁ et al., 2009; YU et al., 2009; PANADERO et al., 2010, REICHEL et al., 2013). A ocorrência em diversos países,

assim como no Brasil, varia de acordo com a região estudada e com o tipo de produção, leite ou corte (GOODSWEN et al., 2013).

No Brasil, atualmente, a ocorrência do protozoário varia de 10,9% a 50,74%, essa variação ocorre principalmente de acordo com a região estudada e o ponto de corte utilizado no teste empregado (TABELA 1) (TEIXEIRA et al., 2010; AGUIAR et al., 2011).

**Tabela 1** - Ocorrência de *Neospora caninum* em bovinos de diferentes regiões do Brasil

| Referência                       | Estado | Nº rebanho | Nº animais examinados | Aptidão | Teste empregado | Ponto de corte | % Positivos |
|----------------------------------|--------|------------|-----------------------|---------|-----------------|----------------|-------------|
| Guimarães Jr et al. (2004)       | PR     | 23         | 623                   | leite   | RIFI            | 1:50           | 14,3        |
| Locatelli-Dittrich et al. (2008) | PR     | 77         | 1263                  | NI      | ELISA           | NI             | 33          |
| Teixeira et al. (2010)           | MA     | 27         | 812                   | leite   | RIFI            | 1:200          | 50,74       |
| Aguiar et al. (2011)             | SP     | 118        | 1104                  | leite   | RIFI            | 1:100          | 10,9        |
| Amaral et al. (2012)             | PE     | NI         | 306                   | corte   | RIFI            | 1:200          | 12,6        |
| Moura et al. (2012)              | SC     | 19         | 373                   | leite   | RIFI            | 1:200          | 23,1        |
| Bruhn et al. (2013)              | MG     | 40         | 1204                  | leite   | RIFI            | 1:200          | 21,6        |

NI – não informado

Além das diferenças de região e do teste empregado, outra condição que interfere na ocorrência da doença são os fatores de risco, e esses variam de acordo com a região estudada e a propriedade. Os principais fatores de risco associados com a

neosporose são: número de gestações, presença de hospedeiro definitivo na propriedade, idade dos animais e a presença de problemas reprodutivos, como abortos, distocias e repetição de cio (GOODSWEN et al., 2013).

### ***Leptospira* sp.**

Zoonose que possui uma grande importância mundial a leptospirose é causada por uma bactéria espiroqueta, pertencente à Ordem Spirochaetales, a Família Leptospiraceae e ao gênero *Leptospira*, são conhecidas 21 espécies genômicas, sendo que nove são patogênicas (*L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. alexanderi*, *L. kmetyi* e *L. alston*), cinco são intermediárias (*L. inadai*, *L. broomii*, *L. fainei*, *L. wolffii* e *L. licerasiae*) e sete são saprófitas (*L. biflexa*, *L. wolbachii*, *L. meyeri*, *L. vanthielii*, *L. terpstrae*, *L. yanagawae* e *L. idonii*), atualmente são conhecidas mais de 320 sorovares diferentes, pertencentes principalmente as espécies patogênicas. Essas espécies possuem a capacidade de infectar diversas espécies de animais além do ser humano, como canídeos, bovinos, suínos, equinos, entre outros (LEHMANN et al., 2014; TORRES-CASTRO et al., 2016).

O primeiro registro em humanos de casos de leptospirose foi por Adolf Weil em 1886 e em seguida por Stimson em 1907 quando encontrou organismos espiralados em um paciente com distúrbios renais (LEVETT, 2001). Em bovinos, o primeiro

relato da doença foi em 1940 na Rússia (SEMSKOV, 1940; TERSKICH, 1940a; TERSKICH, 1940b) e desde então essa bactéria vem sendo estudada constantemente, pois ela é responsável por diversos prejuízos na bovinocultura, além de trazer riscos para a saúde pública, possuindo ampla disseminação por todo o mundo (BOLIN e ALT, 1999; PINTO et al., 2015).

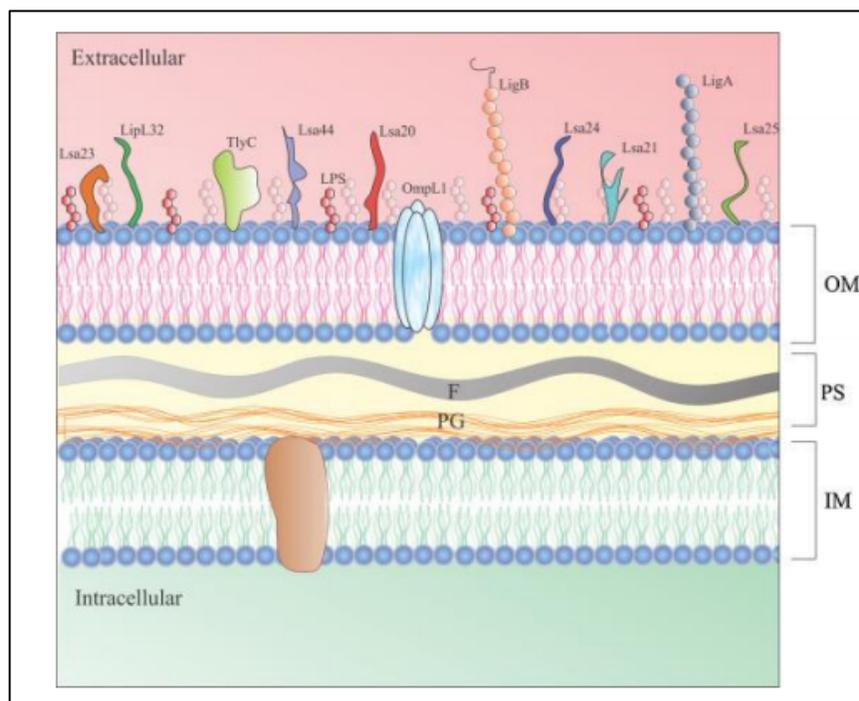
Os sorovares patogênicos possuem a capacidade de infectar diferentes órgãos de indivíduos susceptíveis, de animais ou seres humanos, principalmente rins, fígado e pulmões. Em bovinos geralmente atinge o trato geniturinário das fêmeas, infectando a placenta e provocando o aborto (ADLER e MOCTEZUMA, 2010; TORRES-CASTRO et al., 2016). Por ser eliminado principalmente pela urina, os animais de produção possuem uma grande importância na epidemiologia da doença, devido ao grande volume eliminado no ambiente diariamente facilitando a disseminação da bactéria (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Os principais sorovares que infectam os bovinos são: Hardjo, Pomona, Grippyphosa, Icterohaemorrhagiae, Wolffi e Canicola (PEREGRINE et al., 2006; LAGE et al., 2007; MUGHINI-GRAS et al., 2014).

### Estrutura e ciclo biológico

As espécies de *Leptospira* são aeróbicas estritas, possui aproximadamente 0,1µm de diâmetro e 6-20µm de comprimento, são catalase, oxidase e peroxidase positivas, são espiraladas, flexíveis, móveis e delgadas, compostas de um cilindro protoplasmático que se enrola em um filamento axial central, possuem estruturas de superfície comum as bactérias

gram-positivas e gram-negativas, a dupla camada de lipopolissacarídeos (LPS) são características de gram-negativas, porém a membrana citoplasmática com um peptidoglicano (mureína) é característica das gram-positivas. Entretanto, devido às suas características da membrana celular e a estrutura da LPS a *Leptospira* é considerada uma bactéria gram-negativa (Figura 3) (ABUAUADA et al., 2005; HAAKE e MATSUNAGA, 2010; FERNANDES et al., 2016; TORRES-CASTRO et al., 2016).



**Figura 3:** Arquitetura da membrana e adenosinas expostas à membrana de *Leptospira* spp. A figura mostra: membrana externa (om), contendo lipopolissacarídeos (lps); o espaço periplasmático (ps) na qual o peptidoglicano (pg) está fortemente associado com a membrana interna (im); o endoflagelo (f), responsável pela motilidade da bactéria, localizado no ps. Fonte: Fernandes et al., 2016.

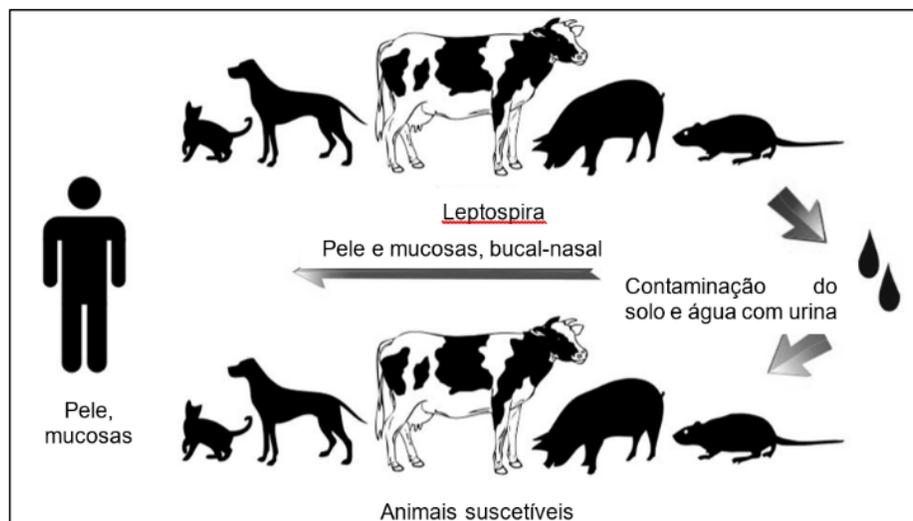
Em outras espiroquetas o LPS está ausente, já nas leptospiros ele é o principal componente da superfície da bactéria, é muito similar com a de outras bactérias gram-negativas, porém sua toxicidade é reduzida, suas características são utilizadas para a produção de vacina e para a classificação sorológica, diferenciando os sorovares (PATRA et al., 2015; HAAKE e ZUCKERT, 2015).

O ciclo da *Leptospira* spp começa quando estas penetram no organismo do hospedeiro através das mucosas e conjuntivas, de pequenos cortes ou abrasões, ou através da pele íntegra quando há dilatação dos poros. Se multiplicam no interstício e nos humores, a fase de leptospiremia acontece quando há grande quantidade de bactérias na corrente sanguínea, então migram para diversos órgãos, principalmente para os túbulos

renais proximais e para o trato geniturinário feminino (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

A bactéria pode permanecer nos túbulos renais proximais por período indeterminado, podendo ser desde semanas ou até o final da vida do hospedeiro. Para finalizar o ciclo, a eliminação da *Leptospira* sp. ocorre pela urina, contaminando o ambiente, principalmente a água e os alimentos, gerando a infecção de outros animais (Figura 4). As principais fontes de infecção são os reservatórios (roedores), os portadores assintomáticos (bovinos, suínos, caprinos, animais silvestres), os convalescentes e os animais doentes (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

A transmissão também pode ocorrer de forma congênita, quando as bactérias migram para a placenta atingindo o feto, esse tipo de transmissão acontece principalmente em bovinos e suínos (BROD e FEHLBERG, 1992).



**Figura 4:** Ciclo da *Leptospira* sp. Fonte: Ugás, 2014

#### Patogenia e sinais clínicos

A *Leptospira* sp. quando na corrente sanguínea se multiplica, podendo demorar até sete dias pós infecção, quando isso acontece os primeiros sinais são observados, devido às lesões primárias ocasionadas pelas toxinas liberadas pela bactéria. Devido aos danos nos pequenos vasos sanguíneos pode ocorrer lesões hepatocelulares, pulmonares, meningite, miosite e placentite, ainda podem ser observadas hemorragias, icterícia e esplenomegalia, lesões características da fase aguda (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Com a produção de anticorpos, as bactérias são removidas da corrente circulatória e dos tecidos através da opsonofagocitose, porém elas podem permanecer no tecido renal dos animais por longos períodos. O mecanismo de patogenicidade dessa bactéria, principalmente a manutenção no tecido renal, ainda não está totalmente esclarecido (ELLIS, 1994; ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Os sinais clínicos variam de acordo com a espécie animal e com a forma da doença, em bovinos ela pode ser aguda ou crônica. Os principais sinais da fase crônica são os abortos, repetição de cio e natimortos, já a fase aguda é caracterizada por icterícia,

Uma revisão sobre três importantes agentes causadores de aborto em bovinos: *Neospora caninum*, *Leptospira* sp. e *Trypanosoma vivax*

acúmulo de líquido em diversas regiões do corpo, hematúria e hipertermia (ELLIS, 1994).

#### Diagnóstico laboratorial

Como a maioria dos sinais clínicos da leptospirose são inespecíficos, ou seja, não são característicos somente da *Leptospira* sp., exames laboratoriais devem ser utilizados para confirmar o diagnóstico. Existem diversos tipos de métodos diagnósticos para a doença, os mais

utilizados são: exame direto em microscopia de campo escuro, PCR, histopatologia, imunoistoquímica, cultura, inoculação em animais de laboratório, imunofluorescência indireta, teste de soroprecipitação microscópica, hemaglutinação indireta, ELISA e teste imunocromatográfico de fluxo lateral (Tabela 3) (YAAKOB et al., 2015).

**Tabela 2:** Métodos de diagnóstico utilizados para *Leptospira* sp.

| Método de diagnóstico                             |                                                     | S     | E     |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------|-------|
| Microbiológico                                    | Microscopia de campo escuro                         | 61%   | 60%   |
|                                                   |                                                     | 93%   |       |
| Sorologia                                         | <b>Teste de soroprecipitação microscópica (SAM)</b> |       |       |
|                                                   | 1-5 dias                                            | 30%   | 97%   |
|                                                   | 5-14 dias                                           | 63%   |       |
|                                                   | Convalescente                                       | 76%   | 86,7% |
|                                                   |                                                     | 91,4% |       |
|                                                   | <b>Teste de Imunoadsorção enzimática (ELISA)</b>    |       |       |
|                                                   | IgM                                                 | 86,5% | 97%   |
|                                                   | rLIPL32                                             | 96,4% | 90,4% |
|                                                   | <b>Imunofluorescência</b>                           |       |       |
|                                                   |                                                     | 45%   | 96,8% |
|                                                   |                                                     | 91,9% | 100%  |
|                                                   | <b>Hemaglutinação</b>                               |       |       |
|                                                   |                                                     | 79%   | 81,1% |
| <b>Teste imunocromatográfico de fluxo lateral</b> |                                                     |       |       |
| Primeira semana                                   | 52,9%                                               | 93,6% |       |
| 2-4 semanas                                       | 86%                                                 | 89,4% |       |

Fonte: Yaakob et al., 2015 modificado. S: Sensibilidade; E: Especificidade.

O diagnóstico da leptospirose geralmente se baseia na sorologia, pois alguns métodos diretos possuem baixa sensibilidade devido à recuperação da bactéria, resultando em resultados falso-negativos. O Método sorológico mais empregado no mundo todo, principalmente para bovinos, é o SAM, porém possui algumas limitações, como a subjetividade, a sensibilidade e especificidade que são baixas, além de ser considerado um método trabalhoso (OIE, 2014; PINTO et al., 2015).

O método direto com maior sensibilidade e especificidade para a *Leptospira* sp. é a PCR, porém estes variam de acordo com o gene pesquisado, os mais utilizados são LipL32 e secY (CHANDRASENKARAN e GONATHI, 2004). Para a detecção do DNA da bactéria em sangue e urina é necessário que nessas soluções possuam de 100-1000 bactérias por microlitros, tornando esse um dos principais limitantes para o teste (BOURHY et al., 2011).

Outro método direto é a histopatologia e pode ser utilizada em associação com outros métodos como a

imunoistoquímica e a PCR. As principais lesões encontradas são principalmente no tecido renal, como nefrite intersticial, atrofia tubular, lesões glomerulares como espessamento da membrana basal capilar. Na imunoistoquímica o antígeno é mais comumente observado nas células epiteliais e intersticiais (MINEIRO et al., 2011).

**Epidemiologia** A leptospirose em humanos e em animais está presente em todos os continentes e é considerada uma das zoonoses com maior distribuição no mundo. A ocorrência é maior em países tropicais e subtropicais, principalmente em épocas com um volume maior de chuvas, fator que facilita a disseminação (DONAIRES et al., 2012; ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Em bovinos a ocorrência varia de acordo com a região estuda, com o teste de diagnóstico utilizado e com a presença dos principais fatores de risco nas propriedades. No Brasil a prevalência varia de 35,94% a 79,26% (Tabela 4) (SILVA et al., 2012; SARMENTO et al., 2012; HASHIMOTO et al., 2012).

Tabela 3: Ocorrência de *Leptospira* sp. em bovinos de diferentes regiões do Brasil

| Referência             | Estado | Nº rebanho | N animais examinados | Teste empregado | % Positivos |
|------------------------|--------|------------|----------------------|-----------------|-------------|
| Silva et al., 2012     | MA     | 573        | 4832                 | SAM             | 35,94       |
| Sarmiento et al., 2012 | GO     | NI         | 1741                 | SAM             | 69,1        |
| Sarmiento et al., 2012 | MT     | NI         | 1186                 | SAM             | 75,46       |
| Sarmiento et al., 2012 | MS     | NI         | 995                  | SAM             | 81,61       |
| Sarmiento et al., 2012 | MG     | NI         | 1615                 | SAM             | 66,44       |
| Sarmiento et al., 2012 | PR     | NI         | 1655                 | SAM             | 43,69       |
| Sarmiento et al., 2012 | RS     | NI         | 784                  | SAM             | 51,74       |
| Sarmiento et al., 2012 | SP     | NI         | 1663                 | SAM             | 68,25       |
| Sarmiento et al., 2012 | SC     | NI         | 217                  | SAM             | 79,26       |
| Hermann et al., 2012   | RS     | 136        | 1360                 | SAM             | 38,75       |
| Hashimoto et al., 2012 | PR     | 274        | 1800                 | SAM             | 35,94       |
| Pimenta et al., 2014   | PB     | 450        | 2317                 | SAM             | 61,1        |

NI: Não informado

Os principais fatores de risco associados com a leptospirose em bovinos são: a presença de outras espécies de animais nas propriedades, como os animais silvestres, o tamanho do rebanho e a incidência de problemas reprodutivos, como repetição de cio e abortos (SILVA et al., 2012; HASHIMOTO et al., 2012).

### *Trypanosoma (Duttonella) vivax*

*Trypanosoma (Duttonella) vivax* é um protozoário flagelado, heteroxeno, do Filo Euglenozoa e da Família Trypanosomatidae. Parasita diversas espécies de animais domésticos e silvestres, porém os bovinos possuem uma maior importância (GIORDANI et al., 2016). São transmitido principalmente por insetos hematófagos. No Brasil está associado

principalmente com os Tabanidae e *Stomoxys calcitrans* (BIRHANU et al., 2015), porém podem ser transmitidos também por outros insetos hematófagos ou por agulhas contaminadas (ZAPATA et al., 2009).

Os primeiros relatos de *T. vivax* na América foram em 1930 quando houve a importação de bovinos do Senegal para a Guiana Francesa, Ilhas de Martinica e Guadalupe (CURASSON, 1943), a partir deste momento a doença se disseminou para diversos países. No Brasil, o primeiro relato da doença foi em 1946 no Estado do Pará (BOULHOSA, 1946) e em seguida foi diagnosticada em búfalos na região amazônica (SHAW e LAISON, 1972).

A doença está se disseminando nas diversas regiões do país trazendo inúmeros prejuízos na produção, porém em alguns

Estados ela ainda não foi diagnosticada. Por ser uma doença exótica em algumas regiões, o impacto causado por ela atinge grandes proporções, preocupando os médicos veterinários e pecuaristas, principalmente pela grande queda na produção e perda de vários animais (PAIVA et al., 2000; CARVALHO et al., 2008).

#### Estrutura e ciclo biológico

*T. vivax* é um hemoparasito flagelado, cuja forma tripomastigota é encontrada na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado. O corpo é alongado e achatado, possui 18 a 31  $\mu\text{m}$  de comprimento (incluindo o flagelo, que possui de 3 a 6  $\mu\text{m}$ ), porém o comprimento médio varia de 21 a 25,4  $\mu\text{m}$ , apresenta um grande dimorfismo, com a extremidade posterior variando de forma, podendo ser larga, terminando em forma rombuda, afilando abruptamente ou

apresentando a ponta arredondada. As principais estruturas do parasito são o núcleo, o cinetoplasto, uma membrana ondulante e o flagelo (FIGURA 3) (HOARE, 1972; DAGNACHEW e BEZIE, 2015).

As formas epimastigotas podem ser encontradas em moscas tsé-tsé, que pertencem ao gênero *Glossina*, esses são os únicos hospedeiros invertebrados em que há a multiplicação do parasito, permanecendo infeccioso durante a vida do inseto. No Brasil, como não há a presença da *Glossina* a transmissão se dá por outros insetos hematófagos, principalmente os Tabanidae e os *Stomoxys calcitrans* ou por agulhas contaminadas, porém esses insetos são apenas vetores mecânicos, pois não há a multiplicação do parasito (DESQUESNES e DIA, 2004; OSÓRIO et al., 2008).

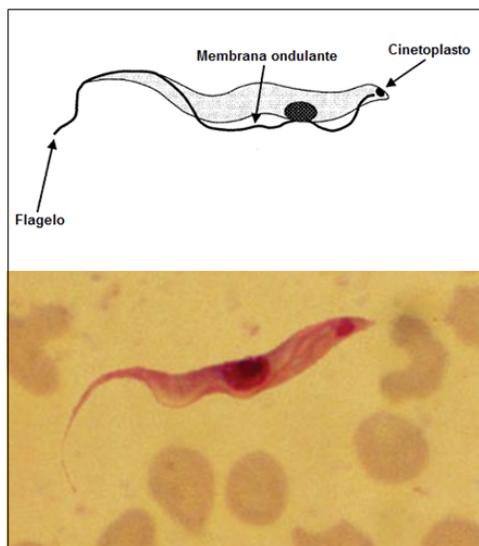
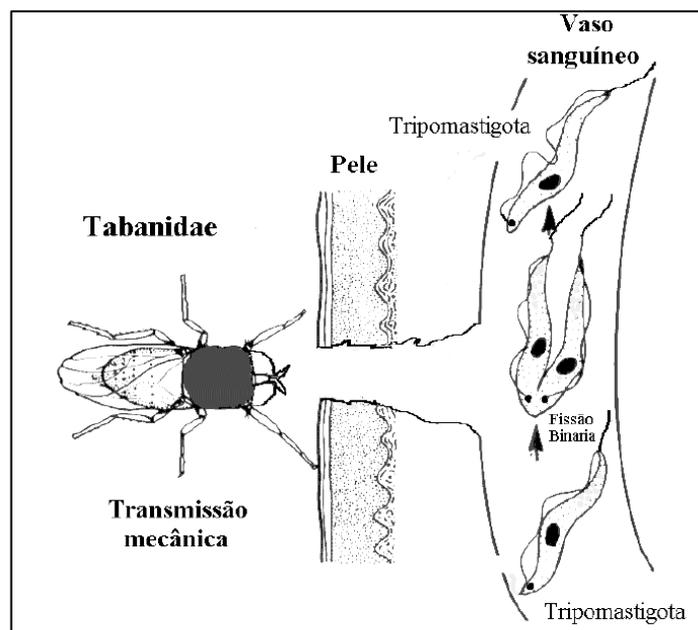
*Trypanosoma vivax*

Figura 3 - *Trypanosoma vivax* em esfregaço sanguíneo corado com panótico, aumento de 1000x. FONTE: Osório et al. (2009) modificado

Diferentemente dos outros Tripanosomas, o *T. vivax* não possui a forma pró-cíclico, ou seja, não migra para o intestino do inseto, permanecendo somente na probóscide, alguns autores acreditam que seja esse o motivo do parasito poder ser transmitido por outras espécies de insetos, além da *Glossina* (OSÓRIO et al., 2008; JACKSON et al., 2015).

Após a infecção, no hospedeiro vertebrado os tripomastigotas se multiplicam através de fissão binária, eles são revestidos

por glicoproteínas variáveis de superfície que induzem uma rápida resposta imune no animal, eliminando os parasitos rapidamente, porém alguns protozoários que sobrevivem substituem essas glicoproteínas de superfície levando a um novo Tipo Antigênico Variável (VAT), esses novos tripomastigotas se multiplicam, gerando a doença. Por fim, novos insetos hematófagos se contaminam e transmitem para outros animais (FIGURA 4) (NANTULYA et al., 1986; DAGNACHEW e BEZIE, 2015).



**Figura 4** - Ciclo *Trypanosoma vivax*. FONTE: Silva et al. (2002)

#### Patogenia e sinais clínicos

A tripanosomose em bovinos possui alta morbidade e letalidade, principalmente quando há o primeiro contato entre o parasito e o hospedeiro vertebrado. A letalidade é explicada pela anemia severa, causada por hemólise intra e extravascular, diminuição da eritropoiese, hemorragias, secreção de neuramidase, que atua hidrolisando o ácido siálico, componente da superfície das hemácias e pela ação das fosfolipases que são liberadas pelos parasitos mortos, gerando lipídeos que alteram as hemácias. Ainda, a anemia pode ocorrer por mecanismos autoimunes que depositam complexos imunes na superfície

das hemácias (ESIEVO et al., 1982; ANDRIANARIVO et al., 1995; OSÓRIO et al., 2008).

Além das alterações causadas pelas fosfolipases, neuramidases e proteases na superfície das hemácias, que vão gerar epítomos reconhecidos como estranhos, com produção de anticorpos, o próprio *T. vivax* também gera anticorpos que reconhecem epítomos das hemácias de bovinos, levando à destruição dessas hemácias, gerando a anemia (OKECK et al., 1996).

A anemia junto com o aborto são sinais característicos da tripanosomose em bovinos (SILVA et al., 1999). O processo patológico do aborto ainda não está totalmente esclarecido, alguns estudos

recentes demonstram que ele está associado com a fase aguda da doença (DAGNACHEW e BEZIE, 2015), podendo ser causado pela indução do estresse, pela hipertermia persistente, por lesões do protozoário na placenta e no feto levando a reações inflamatórias e a diminuição dos níveis de progesterona (SILVA et al., 2013; HURTADO et al., 2016).

Além de anemia e abortos, os animais também podem apresentar anorexia, leucopenia, hipoglicemia, alta atividade sérica de AST, aumento da frequência cardíaca e respiratória, edema, sinais neurológicos, repetição de cio, retenção de placenta e os filhotes podem nascer fracos e debilitados. Em machos podem ocorrer casos de infertilidade e esterilidade (BATISTA et al., 2007; DAGNACHEW e BEZIE, 2015; HURTADO et al., 2016).

#### Diagnóstico laboratorial

A tripanossomose pode ser confundida com diversas doenças que causam aborto e/ou anemia nos bovinos. Para o diagnóstico definitivo da doença é preciso a utilização de testes diagnósticos, sendo os principais métodos diretos para a doença o esfregaço sanguíneo, o método de Woo, o método de *Buffy Coat*, a PCR, a

inoculação em camundongos, o método de aspirado do linfonodo e a histopatologia. Também podem ser utilizados os métodos indiretos, como a imunofluorescência indireta, o teste de aglutinação direto, o ELISA e o teste de tripanólise (SILVA et al., 2002; DAGNACHEW e BEZIE, 2015).

Os Métodos de esfregaço sanguíneo, método de Woo, método de *Buffy Coat* e o aspirado de linfonodo são os mais utilizados no Brasil, porém apesar de serem métodos de fácil execução e baratos eles possuem baixa sensibilidade e especificidade, principalmente quando a doença está na fase crônica (MADRUGA, 2004). Estudos realizados por Robson e Askar (1972) demonstraram uma sensibilidade de 33,3% e 31,5 para o esfregaço e aspirado de linfonodo, respectivamente, quando os dois métodos foram associados a sensibilidade aumentou para 35,3%.

A inoculação em camundongos possui uma sensibilidade maior do que os métodos de esfregaços, cerca de 88,2%, contudo essa técnica é mais utilizada para fins de pesquisa por ser um método demorado e com custos mais elevados (SILVA et al., 2002).

As lesões observadas na histopatologia não são específicas da tripanossomose. Podem ser observadas hiperplasia dos folículos linfóides e áreas multifocais de necrose e infiltrado inflamatório em diversos tecidos, como hepático, cardíaco e esplênico (BATISTA et al., 2008).

Dos métodos diretos, a PCR é a técnica mais sensível e específica, e sua principal vantagem é detectar pequenas quantidades do DNA do parasito no sangue. No caso do *T. vivax* esse método consegue detectar a partir de um tripomastigota por mililitro de sangue. Os principais genes pesquisados são 24S- $\alpha$  e ITS (DESQUENES e DÁVILA, 2002).

As análises sorológicas geralmente são utilizadas somente para estudos epidemiológicos ou para triagem do rebanho. Atualmente, o uso desses métodos vem aumentando no Brasil, pois como os métodos parasitológicos possuem baixa

sensibilidade para detecção de infecção crônica em rebanhos assintomáticos as técnicas sorológicas acabam sendo uma ótima alternativa (VENTURA et al., 2001). Os testes mais utilizados são a Reação de Imunofluorescência Indireta e o ELISA, os dois possuem sensibilidade e especificidade altas (MADRUGA et al., 2006; GARCIA et al., 2006; OSÓRIO et al., 2008).

#### Distribuição

Na América do Sul o *T. vivax* é enzoótico, apresentando incidência variável na população bovina, espalhando-se por diversas áreas. No Brasil, já foi relatada a presença do parasito em diversos Estados, como no Pará, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Pernambuco, entre outros. A prevalência nesses Estados varia de acordo com a região estudada e com a presença dos principais fatores de risco (TABELA 3) (SILVA et al., 2002; BATISTA et al., 2007; BARBIERI et al., 2016).

Tabela 3 - Ocorrência *Trypanosoma vivax* em bovinos de diferentes regiões do Brasil

| Referência             | Estado | Nº rebanho | Nº animais examinados | Teste empregado | % Positivos |
|------------------------|--------|------------|-----------------------|-----------------|-------------|
| Guedes et al. (2008)   | PA     | NI         | 246                   | ELISA           | 93,1        |
| Martins et al. (2008)  | MS     | NI         | 150                   | ELISA           | 52,6        |
| Cadioli et al. (2012)  | SP     | 1          | 609                   | ELISA           | 98,36       |
| Guerra et al. (2013)   | PE     | NI         | 2053                  | RIFI            | 13,93       |
| Costa et al. (2013)    | PB     | 37         | 509                   | RIFI            | 0           |
| Barbieri et al. (2016) | MG     | 40         | 400                   | RIFI            | 49,6        |

NI: Não informado

Os principais fatores de risco da tripanossomose em bovinos estão relacionados com a presença dos insetos hematófagos, então a doença tem uma maior incidência no verão pelo aumento do número de insetos e acomete principalmente regiões tropicais. O compartilhamento de agulhas também favorece o aparecimento da doença nos animais. Outro fator que facilita a disseminação do *T. vivax* por diversas regiões é o transporte de animais, pois animais infectados vão para regiões onde não há doença ocasionando os surtos (SILVA, 2006; ZAPATA et al., 2009).

## REFERÊNCIAS

- ABUAUADA, M.; OSORIOS, J.; ROJAS, P.; PINO, L. Leptospirosis: Presentación de una Infección Fulminante y Revisión de Literatura. **Revista Chilena Infectología**, v. 22, n. 1, p. 93-97, 2005.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 2, p. 287-296, 2010.
- AGUIAR, D. M.; LACERDA, D. P.; ORLANDELLI, R. C.; MEDINA, A. O.; AZEVEDO, L. H.; OKUDA, L. H.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M. E.; PITUCO, E. M. Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in female bovines from the western São Paulo State, Brazil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p.183-189, 2011.
- ALMERIA, S.; SERRANO-PÉREZ, B.; LÓPEZ-GATIUS, F. Immune response in bovine neosporosis: Protection or contribution to the pathogenesis of abortion, **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 177-182, 2017.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.10, p. 963-966, 2012.
- ANDRIANARIVO, A. G.; MUIYA, P.; OPOLLO, M.; LOGAN-HENFREY, L. L. *Trypanosoma congolense*: comparative effects of a primary infection on bone marrow progenitor cells from N'Dama and Boran cattle. **Experimental Parasitology**, v. 80, p. 407-418, 1995.
- BARBIERI, J. M.; BLACON, Y. A. C.; BRUHN, F. R. P.; GUIMARÃES, A. M. seroprevalence of *Trypanosoma vivax*,

- Anaplasma marginale*, and *Babesia bovis* in dairy cattle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 564-573, 2016.
- BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.
- BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 174-181, 2007.
- BIRHANU, H.; FIKRU, R.; SAID, M.; KIDANE, W.; GEBREHIWOT, T.; HAGOS, A.; ALEMU, T.; DAWIT, T.; BERKVENS, D.; GODDEERIS, B. M.; BUSCHER P. Epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* in domestic animals from selected districts of Tigray and Afar regions, Northern Ethiopia. **Parasites Vectors**, v. 8, p. 212, 2015.
- BJËRKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.
- BOLIN, C. A. & ALT, D. P. Clinical signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. **Bovine Practitioner**, v. 33, n. 1, p. 50-55, 1999.
- BOULHOSA, J. L. **Boletim DEMA**, jul.-nov, 1946.
- BOURHY, P.; BREMONT, S.; ZININI, F.; GIRY, C.; PICARDEAU, M. Comparison of real-time PCR assay for detection of pathogenic *Leptospira* spp. in blood and identification of variations in target sequence. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 2154-2160, 2011.
- BROD, C. S. & FEHLBERG, M. F. Epidemiologia da leptospirose em bovinos. **Ciência Rural**, v. 22, n. 2, p. 239-245, 1992.
- BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; LOPES, E.; BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1093-1098, 2013.

- BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 546-552, 2002.
- CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M.R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIO, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012.
- CANTÓN, G. J.; KATZER, F.; MALEY, S. W.; BARTLEY, P. M.; BENAVIDESSILVÁN, J.; PALAREA-ALBALADEJO, J.; PANG, Y.; SMITH, S. H.; ROCCHI, M. S.; BUXTON, D.; INNES, E. A.; CHIANINI, F. Inflammatory infiltration into placentas of *Neospora caninum* challenged cattle correlates with clinical outcome of pregnancy. **Veterinary research**, v. 45, p. 11, 2014.
- CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.
- CAVALCANTI, G.T. Infecção experimental por *Neospora caninum* em cães (*Canis familiaris*) jovens, adultos e em cadeias gestantes. **Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo**, 103p., 2010.
- CHANDRASEKARAN, S. & GOMATHI, S. A standard screening test for the early and rapid diagnosis of leptospirosis. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 23–27, 2004.
- COSTA, V. M.; RIBEIRO, M. F.; DUARTE, A. L.; MANGUEIRA, J. M.; PESSOA, A. F.; AZEVEDO, S. S.; BARROS, A. T.; RIET-CORREA, F.; LABRUNA, M. B. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 207-213, 2013.
- CURASSON, G. *Traité de protozoologie vétérinaire et comparée. I. trypanosomes*. Vigot Frères, Paris, 445 pp. 1943.
- CURI, N. H. A.; PASCHOAL, A. M. O.; MASSARA, R. L.; SANTOS, H. A.; GUIMARÃES, M. P.; PASSAMANI, M.; CHIARELLO, A. G. Risk factors for gastrointestinal parasite infections of dogs

- living around protected areas of the Atlantic Forest: implications for human and wildlife health. **Brazilian Journal of Biology**, v. 15, 2016.
- DAGNACHEW, S. & BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **African Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 7, p. 41–64, 2015.
- De VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 3876 - 3885, 2006.
- DESQUESNES, M. & DÁVILA, A. M. R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 213–231, 2002.
- DESQUESNES, M. & DIA, M. L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 9-19, 2004.
- DERDOUR, S-Y.; HAFSI, F.; AZZAG, N.; TENNAH, S.; LAAMARI, A.; CHINA, B.; GHALMI, F. Prevalence of the main infectious causes of abortion in dairy cattle in Algeria. **Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 337-343, 2017.
- DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; WOUDA, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 209-215, 2001.
- DONAHOE, S. L.; LINDSAY, S. A.; KROCKENBERGER, M.; PHALEN, D.; SLAPETA, J. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. **International journal for parasitology**, v. 4, p. 216-238, 2015.
- DONAIRES, L. F.; CÉSPEDES, M. J.; SIHUINCHA, M. G.; PACHAS, P. E. Determinantes ambientales y sociales para la reemergencia de la leptospirosis en la región amazónica del Perú. **Revista Peruana de Medicina Experimental e Salud Publica**, v. 29, n. 2, p. 280-284, 2012.
- DUBEY, J. P. & SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 1–34, 2006.
- DUBEY, J. P. Review of *N. caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**. v. 41, p.1-16, 2003.
- DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKÅS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.;

- KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; MCALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 929–946, 2002.
- DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, p. 1269-1285, 1988a.
- DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and the experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, p. 1259-1263, 1988b.
- DUBEY, J.P., JENKINS, M.C., RAJENDRAN, C., MISKA, K., FERREIRA, L.R., MARTINS, J., KWOK, O.C.H., CHOUDHARY, S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, 382–387, 2011.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; ANDERSON, M. L.; DAVIS, S. W.; SHEN, S. K. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, p. 709-713, 1992.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals—The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p.90-108, 2011.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M; Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 323–367, 2007.
- ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 10, p. 463-478, 1994.
- ESIEVO, K. A. N.; SAROR, D. I.; ILEMOBADE, A. A.; HALLAWAY, M. H. Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentrations during experimental *T. vivax* infection in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 32, p. 1-5, 1982.
- FERNANDES, L. G.; SIQUEIRA, G. H.; TEIXEIRA, A. R.; SILVA, L. P.; FIGUEREDO, J. M.; COSATE, M. R.; VIEIRA, M. L.; NASCIMENTO, A. L. *Leptospira* spp.: Novel insights into host-

- pathogen interactions. **Veterinary Immunology and immnopathology**, v. 176, p. 50-57, 2016.
- GARCÍA, H.; GARCÍA, M. E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.
- GIBNEY, E. H.; KIPAR, A.; ROSBOTTOM, A.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; HETZEL, U.; TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. the extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *N. caninum* infection in early and late gestacion correlates with foetal death. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 579-588, 2008.
- GIORDANI, F.; MORRISON, L. J.; ROWAN, T. G.; KONING, H. P.; BARRETT, M. P. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v. 10, p. 1-28, 2016.
- GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 159-161, 2004.
- GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, p. 133–150, 2013.
- GUEDES, D. S. J.; ARAÚJO, F. R.; SILVA, F. J.; RANGEL, C. P.; BARBOSA NETO, J. D.; FONSECA, A. H. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern region of the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 2, p. 105-109, 2008.
- GUERRA, N. G.; MONTEIRO, M. F. M.; SANDES, H. M. M.; CRUZ, N. L. N.; RAMOS, C. A. N.; SANTANA, V. L. A.; SOUZA, M. M. A.; ALVES, L. C. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1423-1426, 2013.
- GUIDO, S.; KATZER, F.; NANJIANI, I.; MILNE, E.; INNES, E. A. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine

- Neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 2, p. 131-143, 2016.
- GUIMARÃES JR. J. S.; SOUZAB, S.L.P.; BERGAMASCHIC, D.P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n.1-2, p. 1-8, 2004.
- HAAKE, D. A. & MATSUNAGA, J. *Leptospira*: a spirochaete with a hybrid outer membrane. **Molecular Microbiology**, v. 77, n. 4, p. 805-814, 2010.
- HASHIMOTO, V. Y.; DIAS, J. A.; SPOHR, K. A. H.; SILVA, M. C. P.; ANDRADE, M. G. B.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 99-105, 2012.
- HERRMANN, G. P.; RODRIGUES, R. O.; MACHADO, G.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas Mesoregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 131-138, 2012.
- HOARE C. A. **The tripanosomes of mammals: A zoological monograph**. Blackwell, Oxford, p. 1-749, 1972.
- HURTADO, O. J. B.; CASTRO, P. D. J.; GIRALDO-RÍOS, C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. **Veterinary Parasitology**, V. 229, p. 54-59, 2016.
- IBGE. Banco de dados Agregados. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acessado em: 16 de novembro de 2016.
- JENKINS, M. C.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 631-636, 2002.
- KINT, J.S.; SLAPETA, J.; JENKINS, J.D.; SARWAT, E.; AL-QASSAB.S.E; ELLIS, J.T.; WINDSOR, P.A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.40 (8), p. 945-50, 2010.
- LAGE A. P.; LEITE, R. M. H.; THOMPSON, J. A.; BANDEIRA, D. A.; HERRMANN, G. P.; MOREIRA, E. C.; GONÇALVES, V. S. P. Serology for *Leptospira* sp. in cattle of the State of

- Paraíba, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 185-190, 2007.
- LEHMANN, J. S.; MATTHIAS, M. A.; VINETZ, J. M.; FOUTS, D. E. Leptospirosis Pathogenomics. **Pathogens**, v. 3, n. 2, p. 280-308, 2014.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.
- LINDSAY, D. S. & DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal Veterinary Research**, v. 50, p. 1981-1983, 1989.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; MACHADO JR, P. C.; FRIDLUND-PLUGGE, N.; RICHARTZ, R. R. T. B.; MONTIANI-FERREIRA, F.; PATRÍCIO, L. F. L.; PATRÍCIO, M. A. C.; JOINEAU, M. G.; PIEPPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, s. 1, p. 191-196, 2008.
- MADRUGA, C. R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma (Duttonella) vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 1, p. 46-47, 2004.
- MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; CAVALCANTE GOES, G.; MARTINS, C.; PFEIFER, I. B.; RIBEIRO, L. R.; KESSLER, R. H.; SOARES, C. O.; MIGUITA, M.; MELO, E. P.; ALMEIDA, R. F.; LIMA, M. M. JR. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, p. 801-807, 2006.
- MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: Humoral and cellular immune responses. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1647-1657, 1999.
- MARTINS, C. F.; MADRUGA, C. R.; KOLLER, W. W.; ARAUJO, F. R.; SOARES, C. O.; KESSLER, R. H.; MELO, E. S. P.; RIOS, L. R.; ALMEIDA, R. C. F.; LIMA, M. S. C.; BARROS, A. T. M.; MARQUES, L. C. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd

maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 51-56, 2008.

MCALLISTER, M. M. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 443-463, 2016.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

MINEIRO, A. L. B. B.; VIEIRA, R. J.; COSTA, E. A.; SANTOS, R. L.; GONÇALVES, L. M. F.; CARVALHO, S. M.; BOMFIM, M. R. Q.; COSTA, F. A. L. Emprego de estirpes *Leptospira* spp. isoladas no Brasil na microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 7, p. 601-606, 2011.

MONNEY, T.; HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: what can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**, v. 140, p. 52-70, 2014.

MOURA, A. B.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E. B. *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle of Lages Municipality, Santa Catarina State, Brazil. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v.44, n.2, p. 117-122, 2012.

MUGHINI-GRAS, L.; BONFANTI, L.; NATALE, A.; COMIN, A.; FERRONATO, A.; LA GRECA, E.; PATREGNANI, T.; LUCCHESI, L.; MARANGON, S. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. **Epidemiology and Infection**, v. 142, p. 1172–1181, 2014.

NANTULYA, V. M.; MUSOKE, A. J.; MOLOO, S. K. Apparent exhaustion of the variable antigen repertoires of *Trypanosoma vivax* in infected cattle. **Infection and Immunity**, v. 54, n. 2, p. 444–447, 1986.

NISHIKAWA, Y.; SHIMODA, N.; FEREIG, R.M.; MORITAKA, T.; UMEDA, K.; NISHIMURA, M.; IHARA, F.; KOBAYASHI, K.; HIMON, Y.; SUZUKI, Y.; FURUOKA, H. *Neospora caninum* dense granule protein 7 regulates pathogenesis of neosporosis by modulating host immune response. **Applied Environmental Microbiology**. doi: 10.1128, 2018.

- O'TOOLE, D.; JEFFREY, M. Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. **Veterinary Record**, v. 121, p. 563-566, 1987.
- OIE. Leptospirosis, 2014. In: **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. World Organization for Animal Health, Paris.
- OKECH, G.; DOLAN, R. B.; STEVENSON P.; ALUSHULA, H.; WATSON, E. D.; LUCKINS, A. G.; OMUSE, J. K. The effect of trypanosomosis on pregnancy in trypanotolerant Orma Boran cattle. **Theriogenology**, v. 46, n. 3, p. 441-447, 1996.
- ORTEGA-MORA, L. M.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, A.; GÓMEZ-BAUTISTA, M. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. **Acta Parasitologica**, v. 51, n. 1, p. 1-14, 2006.
- OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; COSTA, S. C. G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis and introduction in the New World – A Review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 1, p. 1-13, 2008.
- PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: Acompanhamento clínico, laboratorial e anátomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.
- PANADERO, R.; PAINCEIRA, A.; LÓPEZ, C.; VÁZQUEZ, L.; PAZ, A.; DÍAZ, P.; DACAL, V.; CIENFUEGOS, S.; FERNÁNDEZ, G.; LAGO, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 111-115, 2010.
- PARISCH, S. M.; MAAGOMILLER, L.; BESSER, T. E.; WEINDER, J. P.; MCELWAIN, T.; KNOWLES, D. P.; LEATHERS, C. W. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, p. 1599—600, 1987.
- PATRA, K. P.; BISWA CHOUDHURY, B.; MICHAEL M. MATTHIAS, M. M.; SHEYENNE BAGA, S.; BANDYOPADHYA, K.; VINETZ, J. M. Comparative analysis of lipopolysaccharides

of pathogenic and intermediately pathogenic *Leptospira* species. **BMC**

**Microbiology**, v. 15, p. 244, 2015.

PEREGRINE, A. S.; MARTIN, S.W.; HOPWOOD, D. A.; DUFFIELD, T. F.; MCEWEN, B.; HOBSON, J. C.; HIETALA, S. K. *Neospora caninum* and *Leptospira* serovar serostatus in dairy cattle in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v. 47, p. 467–470, 2006.

PIMENTA, C. L. R. M.; CASTRO, V.; CLEMENTINO, I. J.; ALVES, C. J.; FERNANDES, L. G.; BRASIL, A. W. L.; SANTOS, C. S. A. B.; AZEVEDO, S. S. Bovine leptospirosis in Paraíba State: prevalence and risk factors associated with the occurrence of positive herds. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 332–336, 2014.

PINTO, P. S.; LIBONATI, H.; PENNA, B.; LILENBAUM, W. A systematic review on the microscopic agglutination test seroepidemiology of bovine leptospirosis in Latin America. **Tropical Animal Health Production**, v. 48, n. 2, p. 239-248, 2015.

REGIDOR-CERRILLO, J.; GOMEZ-BAUTISTA, M.; PEREIRA-BUENO, J.; ADURIZ, G.; NAVARRO-LOZANO, V.; RISCO-CASTILHO, V.; FERNANDEZ-GARCIA, A.; PEDRAZA-DIAZ, S.;

ORTEGA-MORA, L. M. Isolation and genetic characterization of *Neospora caninum* from asymptomatic calves in Spain. **Parasitology**, v. 135, p. 1651-1659, 2008.

REICHEL, M. P.; AYANEGUI-ALCÉRRECA, A. M.; GONDIM, L. F.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 133-142, 2013.

REITT, K.; HILBE, M.; VOEGTLIN, A.; BORBOZ, L.; HAESSING, M.; POSPISCHIL, A. Aetiology of Bovine Abortion in Switzerland from 1986 to 1995 – A retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 54, p 15-22, 2007.

ROBSON, J. & ASHKAR, T. S. Trypanosomiasis in domestic livestock in the Lambwe Valley area and a field evaluation of various diagnostic techniques. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 47, p. 727-734, 1972.

ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J.; LYMBERY, A. J.; THOMPSON, R. C. A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses.

- International Journal for Parasitology**, v.30, p.1369-1377, 2000.
- SARMENTO, A. M. C.; AZEVEDO, S. S.; MORAIS, Z. M.; SOUZA, G. O.; OLIVEIRA, F. C. S.; GONÇALES, A. P.; MIRAGLIA, F.; VASCONCELLOS, S. A. Emprego de estirpes *Leptospira* spp. isoladas no Brasil na microtécnica de soroadglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 7, p. 601-606, 2012.
- SEMSKOV, M. V. To the materials on etiology of infectious yellow fever of cattle. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 7, p. 71-95, 1940.
- SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 25-33, 1972.
- SILVA, F. J.; CONCEIÇÃO, W. L. F.; FAGLIARI, J. J.; GIRIO, R. J. S.; DIAS, R. A.; BORBA, M. R. B.; MATHIAS, L. A. Prevalence and risk factors of bovine leptospirosis in the State of Maranhão, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 303-312, 2012.
- SILVA, R. A. M. S. Approach on risk factors of bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* en the Bolivian and Brazilian Pantanals. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 2, p. 153-162, 2006.
- SILVA, R. A. M. S.; SEIDEL, A.; RAMIREZ, L.; DAVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 141pp, 2002.
- SILVA, R.A., RAMIREZ, L., SOUZA, S.S., ORTIZ, A.G., PEREIRA, S.R., DAVILA, A.M. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 87-93, 1999.
- SILVA, T. M.; OLINDA, R. G.; RODRIGUES, C. M.; CAMARA, A. C.; LOPES, F. C.; COELHO, W. A.; RIBEIRO, M. F.; FREITAS, C. I.; TEIXEIRA, M. M.; BATISTA, J. S. Pathogenesis of reproductive failure induced by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected pregnant ewes. **Veterinary Research**, v. 44, n. 1, p. 1-9, 2013.
- SPILOVSKÁ, S.; REITEROVÁ, K.; KOVÁCOVÁ, D.; BOBÁKOVÁ, M.; DUBINSKY, P. The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 320-323, 2009.

- TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVESIV, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalência de anticorpos anti *Neospora Caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.9, p. 729-734, 2010.
- THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis – like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.1, p. 205-209, 1989.
- TORRES-CASTRO, M.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; ARROYAVE-SIERRA, E.; ZAVALA-CASTRO, J.; PUERTO, F. I. Revisión actual de la epidemiología de la leptospirosis. **Revista Medical del Instituto Mexicano del Seguro Social**, v. 54, n. 5, p. 620-625, 2016.
- VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A. M. S.; TAKEDA, G. F.; BUCK, G. A.; TEIXEIRA, M. M. G. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the Spliced-Leader Gene of a Brazilian Stock and Species-Specific Detection by PCR Amplification of an Intergenic Spacer Sequence. **Experimental Parasitology**, v. 99, p. 37–48, 2001.
- YAAKOB, Y.; RODRIGUES, K. F.; JOHN, D. V. Leptospirosis: recent incidents and available diagnostics - a review. **Medical Journal of Malaysia**, v. 70, n. 6, p.351-355, 2015.
- YU, X.; CHEN, N.; HU, D.; ZHANG, W.; LI, X.; WANG, B.; KANG, L.; LI, X.; LIU, O.; TIAN, K. Detection of *Neospora caninum* from Farm-Bred Young Blue Foxes (*Alopex lagopus*) in China. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 71, p. 113–115, 2009.
- ZAPATA, R.; MESA, J.; MEJÍA, J.; REYES, J.; RÍOS, L. A. Frecuencia de infección por *Trypanosoma* sp. en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en cuatro hatos bufaleros de Barranca bermeja Colombia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 22, p. 25–32, 2009.
- ZOCAL, R.; CARNEIRO, A. V.; JUNQUEIRA, R.; ZAMAGNO, M. A. **A nova pecuária leiteira brasileira**. III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Recife: CCS Gráfica e Editora, v. 1, p. 85-95, 2008.