

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI – *NEOSPORA*
CANINUM EM BUBALINOS DA REGIÃO OESTE DO
ESTADO DE SÃO PAULO**

CLARISSE BARBOSA NEGRÃO

Botucatu – SP

Junho de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI – *NEOSPORA*
CANINUM EM BUBALINOS DA REGIÃO OESTE DO
ESTADO DE SÃO PAULO

CLARISSE BARBOSA NEGRÃO

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Izidoro Francisco Sartor

Nome do Autor: Clarisse Barbosa Negrão

Título: Ocorrência de anticorpos anti – *Neospora caninum* em bubalinos da região oeste do estado de São Paulo

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Izidoro Francisco Sartor
Orientador
Departamento da Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Ass. Dr. Simone Biagio Chiaccho
Membro
Departamento da Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Dr. Daniel Moura de Aguiar
Membro
Agência Paulista Tecnologia dos Agronegócios
Polo Regional da Alta Sorocabana – SP

Data da Defesa: 26 de junho de 2008.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Freqüência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em bubalinos oriundos de propriedades de estados da Federação do Brasil.....	11
Tabela 2	Levantamentos epidemiológicos em rebanhos provenientes de diferentes regiões do Brasil e Argentina.....	21
Tabela 3	Número de bubalinos testados para <i>Neospora caninum</i> em municípios do oeste paulista do Estado de São Paulo.....	24
Tabela 4	Bubalinas testadas para <i>Neospora caninum</i> em municípios da região do oeste Paulista, em três diferentes faixas etárias, 2008.....	27
Tabela 5	Distribuição da freqüência dos bubalinos soropositivos, segundo títulos de anticorpos anti - <i>Neospora caninum</i> , na região oeste do Estado de São Paulo, 2008.....	28

SUMÁRIO

1.Introdução.....	9
2. Objetivo.....	12
3.Revisão de Literatura.....	13
4.Materiais e Métodos.....	24
4.1 Locais de estudo.....	24
4.2 Amostras.....	25
4.3 Descrição da técnica de Imunofluorescência Indireta.....	25
4.4 Análise Estatística.....	26
5.Resultados.....	27
6.Discussão.....	29
7.Conclusão.....	31
Referências.....	32

De tudo ficaram três coisas :
A certeza de que estamos recomeçando,
a certeza de que precisamos continuar,
e a certeza de que podemos ser
interrompidos antes de terminar.
Fazer da interrupção um caminho novo,
fazer da queda um passo de dança,
do medo uma escada,
do sonho uma ponte,
da procura um encontro.
Fica a promessa do reencontro,
fica o desejo de boa sorte,
fica o desejo de lutar e vencer.

(Fernando Sabino)

Agradecimentos

A Deus,

que me deu forças pra continuar...

Ao meu orientador Izidoro Francisco Sartor, a todo meu processo de aprendizado, compreensão e apoio por sua parte, sem falar de seus conselhos, meu MUITO Obrigado!

A minha família que foi base de incentivo e apoio as minhas decisões.

Ao meu parceiro de todas as horas, Marcelo Bueno de Campos, que me escutou, incentivou e me apoiou em todos os momentos.

Ao Daniel Moura de Aguiar que foi compreensivo, decisivo e companheiro na parte da realização dos resultados desta minha tese.

A Ravelly Casarotti que também foi muito importante na realização dos resultados, fornecendo seus conhecimentos, foi paciente e amiga.

Ao professor Flumingham que me ajudou nas primeiras amostras.

A todos meus amigos que fiz em Botucatu e os que participaram e que tornaram essa fase inesquecível.

A minha companheira de quarto, Sifa, onde dividimos alguns momentos.

A todos os proprietários e funcionários das fazendas onde realizei minha pesquisa.

As Faculdades integradas de Ourinhos (FIO), sem as quais esse projeto não teria sido efetuado.

E as pessoas que direta ou indiretamente participaram....

NEGRÃO, C. B. "Ocorrência de anticorpos anti – *Neospora caninum* em bubalinos da região oeste do estado de São Paulo". Botucatu, 2008. 45p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 2008. Universidade Estadual Paulista – UNESP.

RESUMO

Foram testadas 404 amostras de soro de bubalinos (*Bubalus bubalis*) para se verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em animais oriundos de rebanhos de cinco municípios da região oeste do Estado de São Paulo, Brasil. A técnica empregada foi a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), na diluição inicial de 1:100. Foram observados anticorpos anti-*Neospora caninum* em 38,1% (154/404) dos animais testados, com frequência variando de 100 a 12800. Constatou-se diferença entre municípios ($P>0,05$) com variação de 16,2% a 61,4 % de animais sororeagentes. A faixa etária dos soro positivos apresentou-se significativa no município de Lucélia, sendo os animais com idade superior a cinco anos mais frequentemente infectados ($P<0,05$). Esses resultados alertam para a presença da enfermidade em bubalinos na referida região, cuja ocorrência de anticorpos supera as encontradas em bovinos expondo-os, dessa forma, com intensidade ao *N. caninum*.

Palavras-chave: bubalinos, soro, *Neospora caninum*, imunofluorescência indireta.

NEGRÃO, C. B. "Occurrence of anti - *Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the west of São Paulo State". Botucatu, 2008. 45p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 2008. Universidade Estadual Paulista – UNESP.

ABSTRACT

Serum samples from 404 water buffaloes (*Bubalus bubalis*) were tested to verify occurrence of anti - *Neospora caninum* antibodies from the west of São Paulo State, Brazil. The technique used was indirect fluorescence antibody test (IFAT), in dilutions 1:100. It was observed anti-*Neospora caninum* antibodies in 38,1% (154/404) about tested animals, with frequency varying 100 - 12800. Observed a significant difference between cities ($P>0,05$) with minimum variation of 16,2% and maximum of 61,4%. Age influenced in Lucélia, the animals with more five years old were more infected ($P<0,05$). This results alarm for the infection in water buffaloes from this region because the occurrence antibodies is bigger than cattle, expose with a high level *N. caninum* intensity.

Key words: water buffaloes, serum, *Neospora caninum* antibodies, indirect fluorescence antibody test

1. Introdução

A neosporose é uma enfermidade de distribuição mundial sendo amplamente descrita na Europa, África, Austrália, Américas e Ásia (DUBEY, 1999).

Na Califórnia (EUA), o *N. caninum* foi considerado como uma das maiores causas de abortamentos em bovinos leiteiros (ANDERSON *et al.*, 1991), causando em todo país perdas da ordem de US\$ 35 milhões (BARR *et al.*, 1997), havendo um custo aproximado de US\$500 por abortamento (DUBEY, 1999). Na pecuária de corte as perdas são estimadas entre US\$15 e US\$24 milhões (KASARI *et al.*, 1999).

A enfermidade tem sido relatada com maior freqüência em bovinos, gerando forte impacto econômico em decorrência dos abortamentos e perdas neonatais nessa espécie (TREES *et al.*, 1999). Levantamentos sobre abortamentos causados por *N. caninum* em bovinos de corte e leite, têm identificado como uma das maiores causas em vários países.

Em bovinos a neosporose foi primeiramente relatada por Thislted e Dubey (1989) que identificaram o protozoário em um surto no Novo México, quando 12% de 240 vacas abortaram em um período de cinco meses. No Brasil, um dos primeiros relatos foram feitos por Gondim e Sartor (1997) com o encontro de seis animais positivos para *N. caninum*, dentre dez vacas leiteiras com histórico de sucessivos abortamentos. As perdas não se limitam apenas aos abortamentos, o descarte prematuro de matrizes e a diminuição da produção de leite também devem ser incluídos no cálculo do custo da doença (THURMOND; HIETALA, 1996).

O protozoário pode ser transmitido tanto pela via vertical, quanto pela horizontal (DUBEY, 1999). Nesta última o hospedeiro intermediário se infecta pela ingestão de oocistos expelidos pelas fezes do cão (LINDSAY *et al.*, 1999 a) ou de coiotes (*Canis Latrans*) (Gondim *et al.*, 2004). No Brasil, Melo *et al.* (2002) não detectaram anticorpos anti- *N. caninum* em lobos-guará (*Chrysocyon brachiurus*) e em cachoros-do-mato (*Cerdocyon thous*) embora tenha testado apenas dois animais para esta última espécie.

Muitas vezes os bubalinos são criados juntamente com os bovinos e atualmente, investiga-se a importância dessa espécie na epidemiologia da enfermidade (GENNARI, 2004). Nesse sentido, já foi demonstrado que bovinos podem ser infectados com isolados de *N. caninum* de bubalinos (RODRIGUES *et al.*, 2004).

O tamanho estimado do plantel de bubalinos no Brasil é de 3,5 milhões de cabeças, onde 300 mil estão no Estado de São Paulo (BUBALINOCULTURA..., 2007).

A presença de anticorpos para *N. caninum* em amostras de soro, indica exposição à infecção, que pode ser detectada por meio de testes sorológicos tais como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). A RIFI foi o primeiro teste sorológico usado para demonstração de anticorpos anti-*N. caninum* (DUBEY *et al.*, 1988) e vem sendo amplamente usada para diagnóstico de infecção em diferentes espécies, constituindo-se num modelo para a comparação com outros testes (ATKINSON, 2000).

Ao contrário do ocorrido em bovinos, existem poucos estudos sorológicos para *N. caninum* em bubalinos, (Tabela 1) embora tenha sido sugerido que a infecção também pode provocar prejuízos nessa espécie. Os primeiros estudos em búfalos foram publicados quase que simultaneamente no Vietnã (HOUNG *et al.*, 1998) e Egito (DUBEY *et al.*, 1998), relatando a detecção de anticorpos nessa espécie animal.

Na Itália, além de detecção de anticorpos, Guarino *et al.* (2000) verificaram cistos semelhantes aos de *N. caninum* em dois de quatro fetos bubalinos abortados. Na província de Caserta na Itália é um importante criatório de búfalos, abrigando uma média de 114 mil cabeças, sendo identificada uma frequência de anticorpos em 34,6% dos animais.

CAMPERO *et al.* (2007) encontraram frequência de anticorpos no norte da Argentina (província de Corrientes) de 64%, demonstrando um importante índice de infecção naquele rebanho.

Anticorpos anti- *Neospora caninum* em bubalinos detectados por sorologia em alguns rebanhos de várias regiões do Brasil.

A tabela 1 apresenta as freqüências de anticorpos anti-*Neospora caninum* no Brasil.

TABELA 1- Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bubalinos oriundos de propriedades de estados da Federação do Brasil.

Estado	Positivos	Autores
Bahia	36,5%	GONDIM <i>et al.</i> 1999
São Paulo	64%	FUJJI <i>et al.</i> , 2001
São Paulo	56%	SOUZA <i>et al.</i> , 2001
Pará	70,9%	GENNARI <i>et al.</i> , 2005
Rio Grande do Sul	14,6%	VOGEL <i>et al.</i> , 2006
Bahia	35,9%	GONDIM <i>et al.</i> , 2007

O *N. caninum* já foi isolado do cérebro de seis bubalinos soropositivos também do estado de São Paulo (RODRIGUES *et al.*, 2004).

2. Objetivo

Perante o exposto o objetivo deste trabalho foi verificar a dimensão da contaminação dos bubalinos pelo *N. caninum* na região oeste do Estado de São Paulo.

3. Revisão de Literatura

O relato inicial do achado de um protozoário em tecidos de cães com sintomatologia semelhante à toxoplasmose foi feito na Noruega por Bjerkås *et al.* (1984), quando este foi verificado em uma ninhada de cães da raça boxer com meningo-encefalite e miosite. Ao microscópio óptico, o parasito lembrava o *Toxoplasma gondii*, mas não reagia imuno-histoquimicamente com anticorpos anti *T. gondii*. Anos após estudos ultra-estruturais confirmaram que esse parasito era diferente de outros protozoários conhecidos (DUBEY, 1996). Dubey e seus colaboradores (1988) por meio de um estudo retrospectivo conseguiram classificar o parasito denominando-o *Neospora caninum*.

O parasito foi agrupado no filo apicomplexa, como um novo gênero da família sarcocystidae, juntamente com os gêneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia*, *Besnotia* e *Frenkelia* (HOLMDAHL *et al.*, 1994; SCHOCK *et al.*, 2001).

De acordo com Dubey *et al.* (2002) a classificação taxonômica é:

Império: Eukariota

Reino: Protozoa (Owen, 1858)

Filo: Apicomplexa (Levine, 1970)

Classe: Sporozoasida (Leukart, 1879)

Sub classe: Coccidiasina (Leukart, 1879)

Ordem: Eucoccidiorida (Léger e Doboscq, 1910)

Sub ordem: Eimeriorina (Léger, 1910)

Família: Sarcocystidae (Poche, 1913)

Sub família: Toxoplasmatinae (Biocca, 1956)

Gênero: Neospora (Dubey, Carpenter, Speer, Topper e Uggla, 1988)

Espécie: Neospora caninum (Dubey, Carpenter, Speer, Topper e Uggla, 1988)

Neospora huguesi

Nenhuma diferença morfológica, biológica ou molecular foi encontrada entre os isolados de cães e bovinos (DUBEY *et al.*, 2002).

No Brasil o primeiro agente isolado foi proveniente do cérebro de um cão adulto e os taquizoítos do *N. caninum* obtidos em cultivo celular por Gondim *et al.* (2001) foi denominado NC – Bahia.

Existe também outra espécie denominada *Neospora Hughesi*, encontrada em um eqüino de 11 anos de idade no Oregon (USA) por Marsh *et al.* (1998) sendo os oocistos e bradizoítos menores que os do *N. caninum* (DUBEY, 1999).

Os três estágios morfológicos do parasito são: esporocistos, localizados no interior dos oocistos eliminados nas fezes do cão, taquizoítos e bradizoítos, contidos nos cistos teciduais de hospedeiros intermediários e definitivos.

O *N. caninum* é um parasito intracelular obrigatório, que destrói as células hospedeiras devido a ativa multiplicação dos taquizoítos. Estes são ovóides, lunares ou globulares. (DUBEY *et al.*, 1988) de formato de arredondado a oval, sendo mais observados em tecidos nervosos como cérebro, cordão espinhal, nervos e retina (DUBEY *et al.*, 1988b; DUBEY *et al.*, 1990). A parede do cisto é lisa e a espessura varia com o tempo de existência da infecção (BJERKAS; DUBEY, 1991).

Os bradizoítos são finos, delgados e representa o estágio crônico da infecção, estes possuem organelas como os taquizoítos, mas com menor número de roptrias (DUBEY, 1993).

Os oocistos possuem formato de esférico à sub esférico e sua parede não possui coloração (DUBEY *et al.*, 2002). A esporulação dos oocistos ocorre em 48 a 72 horas em temperatura ambiente. Estes contém dois esporocistos cada, contendo quatro esporozoítos (McALLISTER *et al.*, 1998).

Em 1998 o ciclo de vida do *Neospora caninum* foi elucidado, com a observação da presença de oocistos nas fezes de cães experimentalmente infectados. Mais tarde, Gondim *et al.* (2004) observaram a eliminação de oocistos por coiotes (*C. latrans*) concluindo que esta espécie de canídeo também se comporta como hospedeiro definitivo.

Os hospedeiros intermediários conhecidos são os bovinos, ovinos, caprinos, cervídeos, eqüinos, bubalinos, raposas e felinos que se infectaram através da ingestão de oocistos liberados nas fezes dos hospedeiros definitivos (McALLISTER *et al.*, 1998).

O cão é considerado tanto hospedeiro definitivo quanto intermediário, podendo se infectar por ingestão de tecidos contendo bradizoítos, taquizoítos ou por oocistos esporulados (DUBEY *et al.*, 1988a; LINDSAY *et al.*, 1999) que contaminam a água e alimentos consumidos pelos hospedeiros intermediários facilitando a propagação da infecção (McALLISTER *et al.*, 1998).

A recidiva da infecção nos bovinos ocorre pela recrudescência de cistos que tiveram a parede rompida, com posterior liberação de bradizoítas no próprio animal (WOUDA *et al.*, 1999).

O protozoário se mantém na natureza por meio de infecção vertical e horizontal (DUBEY, 1999).

A transmissão horizontal ocorre quase que exclusivamente por meio da ingestão de água e alimentos contaminados, com oocistos expelidos nas fezes de cães domésticos (BARTELS *et al.*, 1999; WOUDA *et al.*, 1999) e outros carnívoros silvestres como os coiotes (GONDIM *et al.*, 2004). A correlação entre a presença de cães infectados e o surgimento da infecção em bovinos indica a manutenção da infecção por meio da transmissão horizontal (PARÉ *et al.*, 1998; McALLISTER, 1999).

Com o objetivo de estudar a transmissão horizontal de *N. caninum* entre cães da fazenda e bovinos, Dijkstra e colaboradores (2002) na Holanda, compararam rebanhos da raça holandesa. Observaram que os cães das fazendas com histórico de abortamento ingeriam placenta, eram alimentados com colostro ou leite de vaca, lambiam descarga uterina e defecavam em depósito de ração com muito mais freqüência que cães de propriedades sem problemas reprodutivos. O estudo apresentou fortes evidências de que os cães podem se infectar pela ingestão de fluidos fetais e placenta de vacas infectadas e subseqüentemente causar infecção pós natal em rebanhos bovinos pela eliminação de oocistos.

No nordeste dos Estados Unidos, Sanderson *et al.* (2000) concluíram que o fator de risco para que ocorra a transmissão horizontal possa estar relacionado com a densidade populacional, pois observaram que com o aumento da idade e da densidade populacional das vacas ocorria um aumento no número de animais soropositivos. Não foi observada nenhuma diferença em relação aos tipos de manejo.

É possível a infecção pela via intra-uterina utilizando-se de sêmen contaminado com taquizoítos de *N. caninum*. Outro resultado desta pesquisa indica que a infecção via sêmen também pode causar aumentos da perda precoce das gestações (MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

A infecção vertical é responsável pela disseminação e manutenção do patógeno nos rebanhos por sucessivas gerações (BJORKMAN *et al.*, 1996), está bem estabelecida em bovinos, contribuindo significativamente para a manutenção da infecção no rebanho (ANDERSON *et al.*, 1997; WOUUDA *et al.*, 1998).

Os bovinos são infectados principalmente pela via vertical, sendo esta forma responsável por até 95% das infecções no rebanho (DIJKSTRA *et al.*, 2001). Portanto, como esse tipo de transmissão não é efetivo em 100% da população, o parasito necessita da via de infecção horizontal para se manter no rebanho (DYER *et al.*, 2000). A probabilidade de uma vaca leiteira positiva para *N. caninum* em gerar um bezerro infectado é de 95,2% (DAVISON *et al.*, 1999).

A infecção congênita ou vertical vem sendo considerada a mais importante via de transmissão do parasito em rebanhos bovinos (ANDERSON *et al.*, 2000). Estudos têm observado que 93 a 95% das matrizes infectadas transmitiram a infecção a sua prole, resultando em alta prevalência do agente, aparentemente sem a necessidade de dispersão através do hospedeiro definitivo (DAVISON *et al.*, 1999) e tanto vacas quanto novilhas infectadas pelo *N. caninum*, podem transmitir a infecção para seus descendentes, em diferentes gestações, consecutivas ou não (PARÈ *et al.*, 1996; ANDERSON *et al.*, 1997).

A transmissão transplacentária foi demonstrada em caninos, felinos, ovinos, bovinos, camundongos e suínos (DUBEY & LINDSAY, 1989; COLE *et al.*, 1995).

Estudos evidenciam que a infecção endêmica pode ser transmitida verticalmente por anos. Neste tipo de rebanho infectado endemicamente, a introdução de um novo cão pode vir a desencadear surtos de aborto, visto que este cão tornar-se-ia infectado, através da ingestão de placentas e de outros fluidos fetais (DIJKSTRA *et al.*, 2001), transmitindo subseqüentemente a infecção a outros bovinos pela eliminação de oocistos (DIJKSTRA *et al.*, 2002).

Segundo Corbellini *et al.* (2006), a probabilidade de uma vaca ser soropositiva aumenta 1.13 vezes para cada cão na fazenda, evidenciando o papel dos cães no quadro de transmissão de *Neospora caninum*.

O abortamento é o sinal clínico mais freqüente na neosporose em bovinos e ocorre mais frequentemente entre o quinto e sétimo mês de gestação (ANDERSON *et al.*, 2000; DUBEY e SCHARES, 2006)

Quando a infecção pelo *N. caninum* ocorre durante a gestação, o parasito invade as células do útero gravídico, o que explica o abortamento (McALLISTER *et al.*, 1996).

Em bovinos segundo Yaeger *et al.* (1994) os fetos podem morrer no útero, sendo expelido, mumificados, autolizados ou nascerem doentes ou clinicamente normais, porém congenitamente infectados. A presença parcial de autólise nos fetos abortados sugere que a expulsão ocorre, algumas vezes, após a sua morte (ANDERSON *et al.*, 1991). Segundo Barr *et al.* (1995) a mumificação do feto é um indicativo de que a infecção foi instalada antes do quinto mês de gestação.

O produto pode nascer com aspecto clínico normal, porém cronicamente infectado (LINDSAY *et al.* 1996 e Hoar, 1996). Bezerros nascidos de mães infectadas demonstraram os sinais clínicos em cerca de cinco dias após o parto (BARR *et al.*, 1993). Dubey (1989) observou mielite, miocardite e encefalite em bezerros infectados, e em 1992 descreveram o caso de um bezerro infectado que nasceu clinicamente normal e que após duas semanas

começou a apresentar fraqueza, e com quatro semanas morreu devido à paralisia (DUBEY *et al.*, 1992).

Os sinais clínicos de bezerros neonatos infectados por *N. caninum* são: membros posteriores e/ou anteriores flexionados ou hiperestendidos, ataxia, diminuição do reflexo patelar, perda da consciência, exoftalmia, assimetria ocular e deformidades associadas a lesões de células nervosas, na fase embrionária (PICOUX *et al.*, 1998).

O diagnóstico direto é confirmado pela observação de cistos e taquizoítos do parasito em cortes de tecidos de fetos abortados ou bezerros infectados, principalmente no sistema nervoso central, utilizando-se a técnica de imunohistoquímica (LINDSAY & DUBEY, 1989; DUBEY & LINDSAY, 1993); pelo isolamento em camundongos ou em culturas celulares (DUBEY *et al.*, 1988; YAMANE *et al.*, 1998) ou ainda, pela técnica de reação de cadeia em polimerase (PCR), com objetivo de detectar o DNA em amostras de fluidos corpóreos de animais ou fetos infectados (HOLMDAHL *et al.*, 1994) sendo indicada como uma técnica altamente sensível e específica para o diagnóstico da neosporose (ELLIS, 1998; ELLIS *et al.*, 1999).

A identificação de taquizoítos e/ou cistos de *N. caninum*, por meio de exames histológicos e de imunohistoquímica é possível, a partir de amostras de cérebro, medula espinhal, coração, fígado, músculo esquelético, pulmão, rim e placenta (BARR *et al.*, 1990; LINDSAY *et al.*, 1993). Essa técnica foi aplicada em amostras de cérebro fetal no Brasil, realizando o primeiro diagnóstico de *N. caninum*, em um feto bovino abortado, com idade gestacional de oito meses, proveniente de um rebanho leiteiro com histórico de abortamento, por Gondim *et al.* (1999).

As lesões histológicas mais freqüentes observadas em tecido nervoso são: as degenerativas e inflamatórias, com áreas de necrose multifocais e infiltrado de células mononucleares (ANDERSON *et al.*, 1991).

O isolamento em cultivo celular também é utilizado para confirmar a presença do agente, porém não é simples. Dependendo da conservação do material, como fetos abortados autolisados, nos quais provavelmente a maioria

dos parasitos morreu juntamente com o tecido do hospedeiro e a pequena quantidade de bradizoítos viáveis, isso acaba dificultando e o isolamento torna-se inviável (DUBEY; LINDSAY, 1996). Por exemplo em 100 amostras de fetos bovinos suspeitos de aborto pelo *N. caninum*, apenas em duas foi possível o isolamento (CONRAD *et al.*, 1993).

Segundo Björkman & Ugglá (1999), os avanços no conhecimento da biologia e da epidemiologia de *N. caninum* não seriam possíveis sem o emprego do sorodiagnóstico.

A realização de testes sorológicos nos animais é fundamental para avaliar o grau de infecção do rebanho (THURMOND & HIETALA, 1995). A sorologia deve ser efetuada em todos os animais do rebanho, e não apenas nas vacas que abortaram. Isto porque, os bovinos podem adquirir a infecção após o nascimento por meio da ingestão de oocistos (McALLISTER *et al.*, 1998) e animais clinicamente normais, gerados por vacas soropositivas, podem conter títulos de anticorpos (DANNATT *et al.*, 1995).

Em animais, a infecção é caracterizada pela detecção de anticorpos contra o protozoário, empregando-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (DUBEY *et al.*, 1988; PARÉ *et al.*, 1995), vários tipos de ELISA (BJÖRKMAN *et al.*, 1994; OSAWA *et al.*, 1998) ou teste de aglutinação direta modificada (PACKHAM *et al.*, 1998; ROMAND *et al.*, 1998).

A RIFI foi o primeiro sorodiagnóstico utilizado para detectar anticorpos contra *N. caninum* (DUBEY *et al.*, 1988) e segundo Björkman & Ugglá (1999) é considerada como teste de referência quando comparado a outros testes sorológicos para *N. caninum*.

Enquanto Dubey *et al.* (1988), nos EUA, desenvolveram a primeira RIFI, a partir de cultivo celular de tecidos de filhotes de cães, Conrad *et al.* (1993) desenvolveram a primeira RIFI para detecção de anticorpos contra *N. caninum*, a partir de protozoários isolados de bovinos. Estes autores verificaram 55 vacas com histórico de abortamento por *N. caninum* com títulos variando de 320 a 5120, em soros colhidos após abortamentos. Num período de cinco meses, os títulos de seis vacas diminuíram para 160, e destas, duas

apresentaram aumento nos seus títulos de anticorpos em suas gestações subseqüentes, gerando bezerros infectados congenitamente.

A ausência de anticorpos em uma única amostra de sangue, não deve ser considerada negativo devido à ocorrência de soroconversão (DANNATT, 1998).

O título para determinar a infecção por *N. caninum*, a partir de exames de soros e fluidos fetais, é inferior aos de bovinos adultos. A comparação entra um animal adulto e o feto mostra que este último possui exposição menor aos antígenos, resultando em menor produção de anticorpos (OSAWA *et al.*, 1998).

A infecção em fetos não pode ser descartada devido à ausência de anticorpos em soro ou fluidos fetais. A presença de anticorpos é determinada pela condição imunológica do feto, que por sua vez, depende da idade gestacional, da dose infectante e da resposta imune da mãe (DUBEY *et al.*, 1997; WOUDA *et al.*, 1997).

A partir da análise pela RIFI, realizada em fluidos de fetos com varias idades gestacionais, Barr *et al.* (1995) verificaram uma maior quantidade de sororeagentes em fetos de seis a nove meses, comparados ao de menos de cinco meses.

A técnica de ELISA também é bem adaptada para levantamentos sorológicos possibilitando rápida determinação de anticorpos (VENKATESAN; WAKELI, 1994) em grande número de amostras, em pouco tempo de execução do teste (OSAWA *et al.*, 1998). O teste de ELISA que utiliza antígeno total apresenta sensibilidade e especificidade de 89% e 97% respectivamente (PARÈ *et al.*, 1995). Em outra modalidade dessa técnica, na qual é utilizado antígeno recombinante, a sensibilidade e especificidade pode ser de até 98% e 100% segundo Schares *et al.* (1998).

Romand *et al.* (1998) desenvolveram o teste de aglutinação para anticorpos de *N. caninum* (NAT) utilizando soros de vacas e cães naturalmente infectados, e soros de coelho, ratos e ovinos, experimentalmente infectados com taquizoitos ou oocistos.

No Brasil, as execuções destes testes proporcionaram conhecimentos a respeito da situação nacional da infecção nos rebanhos bovinos e bubalinos. A tabela 2 apresenta alguns destes resultados.

TABELA 2: Levantamentos epidemiológicos em rebanhos provenientes de diferentes regiões do Brasil.

Região	Met. Diag.	PC	% Positivo	Espécie	Autor(es)
São Paulo	RIFI	(1:200)	15,9	Bo	Sartor <i>et al.</i> , 2003
São Paulo (P. Pte)	ELISA		20	Bo	Sartor <i>et al.</i> , 2005
São Paulo	RIFI	(1:100)	14	Bu	Fujii <i>et al.</i> , 2001
RS	ELISA		14,6	Bu	Vogel <i>et al.</i> , 2006
Bahia	RIFI	(1:200)	14,9	Bo	Gondim <i>et al.</i> , 1999
Bahia	RIFI	(1:200)	36,5	Bu	Gondim <i>et al.</i> , 1999
Bahia	RIFI	(1:200)	35,9	Bu	Gondim <i>et al.</i> , 2007
Pará	RIFI	(1:200)	19	Bo	Minervino <i>et al.</i> , 2007
Pará	RIFI	(25-≥800)	70,9	Bu	Gennari <i>et al.</i> , 2005

Bo = bovina e Bu = bubalina

PC = Ponto Corte

Na Argentina, Campero *et al.* (2007) avaliando búfalos da região de Corrientes detectaram pela RIFI, 64% animais positivos para *N. caninum*.

A prevenção da transmissão vertical e horizontal é a base para o controle das infecções por *N. caninum* (PARÉ *et al.*, 1998).

O descarte de animais infectados via congênita evita a disseminação do parasito no rebanho através da infecção transplacentária (THURMOND & HIETALA, 1995; WOUDA *et al.*, 1998).

Inicialmente se recomenda estudar a taxa de aborto presente no rebanho, se superior aos níveis admitidos, em torno de 3 a 10%, promove a realização do diagnóstico etiológico do mesmo, fazendo o descarte das positivas e reposição seletiva. As medidas de controle devem atingir todo o rebanho e sempre em função da taxa de soroprevalência e aborto. A eliminação das vacas soropositivas pode ser a medida mais adequada se a soroprevalência é baixa, porém se esta é elevada, as medidas a serem tomadas não devem ser tão drásticas (Forar *et al.*, 1995).

Em um estudo na Suíça observou-se que a melhor estratégia de controle é um teste anual e selecionar as soropositivas e descartá-las do plantel, essa manobra permite a redução mais rápida e efetiva, diminuindo o grau de infecção do rebanho de 12% para 1% no primeiro ano (HÄSLER *et al.*, 2006).

No Canadá Baillargeon e seus colaboradores (2001), estudaram a transferência de embrião para receptoras soronegativas, para a prevenção da transmissão vertical. Neste estudo foram selecionados três grupos: grupo A constituído por receptoras soronegativas que receberam embriões de doadoras soropositivas, grupo B por receptoras soronegativas que receberam embriões de doadoras soronegativas e grupo C com receptoras soropositivas que receberam embriões de doadoras soropositivas ou soronegativas. As taxas de transmissão vertical nos grupos A, B e C foram 0%, 0% e 75% respectivamente. Segundo os autores, o procedimento de transferência de embrião proposto pela Sociedade Internacional de Transferência de Embrião (IETS), o qual inclui transferência para receptoras soronegativas, é um método efetivo para a produção de bezerros livres de infecção por *N. caninum* ao nascimento.

Adotar algumas práticas de manejo, como a proteção dos alimentos e água da contaminação com oocistos pelas fezes de cães, não fornecer nem permitir acesso dos cães a placenta, carne e vísceras de fetos abortados, vacas e bezerros mortos, proibir o contato de cães com depósitos e currais (McALLISTER *et al.*, 1998; PARÉ *et al.*, 1998).

A vacinação tem uma eficácia comprovada na redução da chance de abortamento de aproximadamente 39% e 50% em estudos feitos na Costa Rica e Nova Zelândia (ROMERO *et al.*, 2004).

Tratamento com Toltrazuril tem uma eficácia de 90% de acordo com Kritzner *et al.* (2002), suas desvantagens é o custo do tratamento e a perda do leite em gados leiteiros.

4. Material e Métodos

4.1 Locais do estudo

O critério de seleção tanto das fazendas como dos animais foi por conveniência, devido a escassez de animais nessa região e a dificuldade de proprietários em colaborar com a pesquisa.

O estudo foi efetuado em municípios do Oeste do Estado de São Paulo conforme Tabela 2.

TABELA 3 - Número de bubalinos testados para *Neospora caninum* em Municípios do Oeste Paulista do Estado de São Paulo, Brasil – 2008

Municípios	Número de bubalinos
Adamantina	111
Emilianópolis	50
Lucélia	140
Presidente Bernardes	44
Teodoro Sampaio	59
Total	404

4.2 Amostras

As amostras foram obtidas de fêmeas bubalinas, da raça murrá e mediterrâneo, em regime de criação semi - extensivo, com idade entre 2 a 15 anos, onde na sua maioria é utilizada para a produção de leite.

Foram testadas 404 fêmeas bubalinas, cujo sangue foi colhido pela veia jugular com tubos vacunteiner, na quantidade de 10 ml de sangue total, sendo este centrifugado e retirado apenas o soro. Este foi acondicionado em tubos de polipropileno (eppendorf) previamente identificados e mantidos congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ em freezer. Após a obtenção do número total de amostras estas foram submetidas à técnica de imunofluorescência indireta.

4.3 Reação de Imunofluorescência Indireta

O diagnóstico foi realizado pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) segundo a metodologia preconizada por Dubey *et al.* (1988).

Para a sensibilização das lâminas para a RIFI utilizou-se taquizoítos da amostra NC-1 de *N. caninum*. Os taquizoítos vem sendo mantidos em células vero no Laboratório de Sanidade Animal da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, no pólo regional da Alta Sorocabana.

Para a realização da RIFI, adicionou-se, em cada orifício da lâmina, 10 μL do soro a ser testado a partir da diluição 1:100, em tampão fosfato pH 7,2 (0,0084M; Na_2HPO_4 ; 0,0018M; Na_2HPO_4 ; 0,147M NaCl) acrescentado de soro de albumina bovina 1% (p/v). Em cada lâmina foram incluídos soro bovino controle positivo e negativo. As lâminas foram incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos em câmara úmida. Em seguida foram submetida a três lavagens de cinco minutos cada, em uma cuba de vidro contendo solução tampão fosfato pH 7,2.

Depois da lavagem as lâminas foram secas à temperatura ambiente e, em cada orifício, foi acrescentado o conjugado (IgG de coelho anti-IgG bovina marcada com isotiocianato de fluoresceína – Sigma F-7887), utilizado na diluição de 1:1200 em solução tampão fosfato pH 7,2 (0,0084M; Na₂HPO₄; 0,0018M; Na₂HPO₄; 0,147M NaCl) acrescentado de soro de albumina bovina 1% (p/v). As lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos a 37°C e lavadas como descrito anteriormente. Após a secagem à temperatura, realizou-se a montagem com lamínula utilizando glicerina tamponada (pH 8,0).

Para leitura das reações, foi utilizado microscópio equipado para fluorescência (Olympus – modelo BX - 41). O ponto de corte utilizado foi o de 100 e os soros positivos neste título foram diluídos seriadamente e testados para determinar o título máximo da reação. As reações que ocorriam de forma apical ou parcial foram consideradas negativas, enquanto as reações eram consideradas positivas quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total (PARÉ *et al.*, 1995).

4.4 Análise Estatística

Comparou-se as prevalências de soropositivos entre as faixas etárias, em cada município, e entre os municípios pelo teste de qui-quadrado. Adotou-se o valor de significância de 5% ($P < 0,05$).

5. Resultados

Os animais estudados na região oeste do estado de São Paulo apresentaram um índice médio de infecção de 38,11%, sendo que as maiores taxas foram encontradas em Presidente Bernardes e Lucélia (61,4% / 52,1%), seguidas por Emilianópolis e Teodoro Sampaio (36% / 30,5%), e com uma menor taxa Adamantina (16,2%). Havendo uma diferença estatística entre as faixas etárias apenas no município de Lucélia. Resultados demonstrados na tabela 4.

TABELA 4 – Bubalinas testadas para *Neospora caninum* em municípios da região do Oeste Paulista, em três diferentes faixas etárias, 2008.

Municípios	Faixas etárias			Total	% de casos positivos
	Até 2 anos	2 a 5 anos	> 5 anos		
Adamantina	12 (3) A	38 (6) A	61 (9) A	111 (18)	16,2 c
Emilianópolis	6 (2) A	18 (7) A	26 (9) A	50 (18)	36,0 b
Lucélia	25 (10) B	52 (23) B	63 (40) A	140 (73)	52,1 a
Presidente Bernardes	12 (7) A	23 (13) A	9 (7) A	44 (27)	61,4 a
Teodoro Sampaio	5 (1) A	24 (6) A	30 (11) A	59 (18)	30,5 b

() – casos positivos

a, b – para % de casos positivos na coluna, resultados seguidos de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de qui-quadrado ($P>0,05$)

A, B – para cada município, resultados seguidos de mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de qui-quadrado ($P>0,05$)

Os animais positivos foram testados para verificar o título de anticorpos, que variaram de 100 a 12800, com distribuição apresentada na Tabela 5.

TABELA 5: Distribuição da frequência dos bubalinos soropositivos, segundo títulos de anticorpos anti - *Neospora caninum*, na região oeste do Estado de São Paulo. 2008.

Titulo de anticorpos	Numero de bubalinos positivos	Porcentagem %
100	61	39,6
200	42	27,3
400	34	22,1
800	8	5,2
1600	3	1,9
3200	2	1,3
6400	3	1,9
12800	1	0,7
Total	154	100

6. Discussão

Das técnicas utilizadas para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, a RIFI é a mais empregada por ser teste de referência comparada a outros (BJÖRKMAN & UGGLA, 1999).

Conforme consta na tabela 4, houve diferenças na taxa de infecção entre os municípios. A comparação dos resultados com outros estudos já efetuados em bubalinos é complicada. Há uma falta de padronização, dessa maneira deve se levar em consideração muitas variáveis entre elas, a sensibilidade e especificidade do método empregado para a detecção de anticorpos e dentre o próprio método, seu ponto de corte (MEENAKSHI *et al* 2007). Deve-se também atentar para a amostragem, pois quando proveniente de rebanhos cujo abortamento é fato constante, o número de sororeagentes é sempre superior aos conseguidos em amostragens efetuadas na casualidade.

A diluição 1:100 tem sido utilizada com mais freqüência, sendo a mais coerente para este tipo de levantamento, pois é baseada em estudo efetuado por Rodrigues *et al.*, (2004) no qual em seis bubalinos soropositivos triados por essa diluição, em cinco, conseguiram isolar o *Neospora*.

Partindo-se dessas premissas a porcentagem de animais soropositivos (Tabelas 4) na média, é inferior à encontrada por Campero *et al.* (2007), em estudo realizado na Argentina em condições semelhantes. Porém se a comparação ocorrer analisando-se os municípios isoladamente há discrepância nos resultados, pois em dois municípios o número de soropositivos é praticamente o dobro de outros e ao redor de 3,5 vezes superior a um quinto. Em todos os rebanhos havia a presença de cães no convívio com os bubalinos logo, outros fatores de manejo teriam que ser analisados para explicar esta divergência.

Em analogia aos citados autores, em todos os rebanhos analisados foram encontrados búfalos soropositivos. Os resultados assemelham-se aos

achados por Fujii *et al.* (2001) apenas em Adamantina, sendo superiores nos outros quatro municípios (Tabelas 4).

Analisando-se os títulos máximos de anticorpos, pode-se observar que 89% dos animais estão compreendidos na faixa entre 100 - 400 (Tabela 5). Esse achado difere dos de Gennari *et al.*, (2005) que constataram que a maioria dos bubalinos, 32%, possuíam títulos ≥ 800 .

Comparando-se a porcentagem de infecção entre as três faixas etárias, em cada município, (Tabela 4) verifica-se que apenas no município de Lucélia houve correlação entre idade e taxa de infecção na quais animais com faixa etária superior a cinco anos possuíam essa taxa mais elevada. Esse fato, isolado no trabalho como um todo, faz discordar citações de Gennari *et al.*, (2005), porém colabora com descobertas de Guarino *et al.*, (2000) na Itália e de Fujii *et al.*, (2001) no Brasil que constataram maior ocorrência de anticorpos em bubalinos mais velhos, pois estes teriam maior probabilidade de exposição cumulativa à infecção que os jovens se infectando, dessa forma, pela via horizontal. Embora os autores tenham feito essa verificação, ainda não está clara qual rota de infecção é mais importante em bubalinos (CAMPERO *et al.*, 2007). Para os outros municípios a faixa etária não influenciou na porcentagem de bubalinos soropositivos. Essas discrepâncias, em um mesmo estudo, mostram que diferentemente dos bovinos, em que a via vertical desempenha papel fundamental para a manutenção da doença sendo responsável por até 95% das infecções (ANDERSON *et al.*, 1997; WOUDA *et al.*, 1998; DIJKSTRA *et al.* 2001), em bubalinos nada se pode afirmar.

Outro fato observado durante o estudo foi a convivência entre bubalinos e bovinos. A ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* nos bubalinos é superior à encontrada em bovinos da mesma região estudada que foi de 20% em gado de corte (SARTOR *et al.* 2005). Essa convivência pode ser danosa para os bovinos, vez que é comprovado que bovinos podem ser infectados com isolados de *N. caninum* de bubalinos (RODRIGUES *et al.*, 2004).

7. Conclusão

Existe forte manifestação da infecção em bubalinos na referida região, cuja ocorrência de anticorpos supera as encontradas em bovinos expondo-os, dessa forma, com grande intensidade ao *N. caninum*.

Referências

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, B. C.; DUBEY, J. P.; HOFFMAN, R. L.; CONRAD, P. A. *Neospora*-like protozoal infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Journal American Veterinary Medicine Association*, v. 198, n. 2, p. 241-244, 1991.

ANDERSON, M. L.; REYNOLDS, J. P.; ROWE, J. D.; SVERLOW, K. M.; PACKHAM, A. E.; BARR, B. G.; CONRAD, P. A. Evidence of vertical transmission of *Neospora* infection in dairy cattle. *Journal American Veterinary Medicine Association*, v. 210, n. 8, p. 1169-1172, 1997.

ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 2, n. 60/61, p. 417-431, 2000.

ATKINSON, R.; HARPER, P. A.; REICHEL M. P.; ELLIS, J. T. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitology Today*, v. 16, n. 3 ,p. 110-114, 2000.

BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; LAMOTHE, P.; SAUVÉ, R. Evaluation of embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Schaumburg, v. 218, n. 11, p. 1803-1806, 2001.

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

BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; BEY, J. P.; ARDANS, A. A. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases (1990-1992). *Journal American Medicine Association*, v. 202, n. 1, p. 113-117, 1993.

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; SVERLOW, K. W. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Veterinary Record*, v. 137, p. 611-613, 1995.

BARR, B. C.; BJERKAR, I.; BUXTO, D.; CONRAD, P. A.; DUBEY, J. P.; ELLIS, J. T.; JENKINS, M. C.; JOHNSTON, S. A.; LINDSAY, D. S.; SIBLEY, D.; TREES, A. J.; WOUUDA, W. Neosporosis, report of the international Neospora Workshop. *Compendium Continuum Education Practice Veterinary*, v. 19, p. 120-126, 1997.

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

BJERKAS, I., MOHN, S. F., PRESTHUS, J. Undentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift Fuer Parasitenkunde*, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.

BJERKAS, I.; DUBEY, J. P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 32, n.3, p. 407-410, 1991.

BJÖRKMAN, C.; LUNDÉN, A.; HOLMDAHL, J.; BARBER, J.; TREES, A. J.; UGGLA, A. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite Immunology*, v. 16, p. 643-648, 1994.

BJÖRKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STELUND, S.; HOLMDAHL, O. J. M.; UGGLA, A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *Journal American Veterinary Medicine association*, v. 208, p. 1441-1444, 1996.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *International Journal Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1497-1450, 1999.

BUBALINOCULTURA VIRA PARA O LEITE. *O Estado de São Paulo*, São Paulo, 31 jan. 2007. Agrícola, p. 6.

CAMPERO, C. M.; PÉREZ, A.; MOORE, D. P.; CRUDELI, G.; BENITEZ, D.; DRAGHI, M. G.; CANO, D.; KONRAD, J. L.; ODEÓN, A. C. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) on four ranches in Corrientes province, Argentina. *Veterinary Parasitology*, v. 150, p. 155-158, 2007.

COLE, R. A.; LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Journal Parasitology*, v. 81, n. 02, p. 208-211, 1995.

CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J. P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. In vitro isolation and characterization of a *Neospora sp.* From aborted fetuses. *Journal Parasitology*, v. 106, n. 3, p. 239-249, 1993.

CORBELLINI, L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 74, p. 130-141, 2006

DANNATT, L.; GUY, F.; TREES, A. J. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Veterinary Record*, v. 137, n. 22, p. 566-567, 1995.

DANNATT, L. *Neospora caninum* antibody levels in an endemically infected dairy herd. *Compendium Continuum Education Practice Veterinary*, v. 51, p. 200-201, 1998.

DAVISON, H. C.; GUY, F.; TREES, A. J.; RYCE, C.; ELLIS, J. T.; OTTER, A.; JEFFREY, M.; SIMPSON, V. R.; HOLT, J. J. In vitro isolation of *Neospora caninum* from a stillborn calf in the United Kingdom. *Research Veterinary Science*, v. 67, n. 1, p. 103-105, 1999.

DIJKSTRA, T. H.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H. W. Dogs shed *Neospora caninum* oocyst after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *International Journal Parasitology*, v. 31, n. 8, p. 747-752, 2001.

DIJKSTRA, T. H.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; WOUDA, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *International Journal Parasitology*, v.31, n.2, p. 209-215, 2001.

DIJKSTRA, T. H.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; HESSELINK, J. W.; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Veterinary Parasitology*, v. 105, n. 2, p. 99-104, 2002.

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent experimental transmission. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 193, n. 10, p. 1259-1263, 1988.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of Veterinary Medical Association*, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *Journal Parasitology*, v. 75, n. 5, p. 765-771, 1989.

DUBEY, J. P.; KOESTNER, A.; PIPER, R. C. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 197, n. 7, p. 857-860, 1990.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; ANDERSON, M. L. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *Journal American Medicine Association*, v. 201, n. 5, p. 709-713, 1992.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis. *Parasitology today*, v. 9, n. 12, p. 452-458, 1993.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 67, n. 1-2, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; ADAMS, D. S.; GAY, J. M.; BASZLER, T. V.; BLAGBURN, B. L.; THULLIEZ, P. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *American Journal Veterinary Research*, v. 57, n. 3, p. 329-336, 1996.

DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; ADAMS, D. S.; McALLISTER, M. M.; ANDERSON-SPRECHER, R.; BASZLER, T. V.; KWOK, O. C.; LALLY, N. C.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. *The Journal of Parasitology*, v. 83, n. 6, p. 1063-1069, 1997.

DUBEY, J. P., ROMAND, S., HILALI, M., KWOK, O. C. H., THULLIES, P. Soroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. *Int. J. Parasitology*, v. 28, p. 527-529, 1998.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 214, n. 8, p. 1160-1163, 1999.

DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJORKMAN, 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.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora*

caninum and its differentiation from related coccidian. *International Journal Parasitology*, v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 140, p. 1-34, 2006.

DYER, R. M.; JENKINS, M. C.; KWOK, O. C. H.; DOUGLAS, L. W.; DUBEY, J. P. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Veterinary Parasitology*. V. 90, n. 3, p. 171-181, 2002.

ELLIS, J. T. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal Parasitology*, v. 28, p. 1053-1060, 1998.

ELLIS, J.; MCMILLAN, D.; RYCE, C.; PAYNE, S.; ATKINSON, R.; HARPER, P. A. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for detection of *Neospora caninum* DNA. *International Journal Parasitology*, v. 29, p. 1589-1596, 1999.

FORAR, A. L.; GAY, J. M.; HANCOCK, D. D.; GAY, C. C. Fetal loss frequency in Holstein dairy herds. *Theriogenology*, v. 45, p. 1505-1513, 1995.

FUJII, T. U.; KASAI, N.; NISHI, S. M.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 99, p. 331-334, 2001.

GENNARI, S. M. *Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 23-28, 2004.

GENNARI, S. M.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; CARDOSO, E. C. Occurrence of antibodies anti *Neospora caninum* in water buffaloes (*Bubalus*

bubalis) from north region of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 134, n. 1-2, p. 169-171, 2005.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras numa propriedade com histórico de aborto. In: *Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 10., 1997, Itapema. *Anais...* Itapema: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1997. p. 346.

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

GONDIM, L. F. P.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, P. O.; JESUS, E. E.; RIBEIRO, M. B.; FERNANDES, H. S.; ALMEIDA, M. A.; FREIRE, S. M.; MEYER, R.; McALLISTER, M. M. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Veterinary Parasitology*, v. 101, n. 1, p. 1-7, 2001.

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

GONDIM, L. F. P., PINHEIRO, A. M., ALMEIDA, M. A. O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalos (*bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod.*, v. 8, n. 2, p. 92-96, 2007.

GUARINO, A.; FUSCO, G.; SAVINI, G.; FRANCESCO, G. Di.; CRINGOLI, G. Neosporosis in water buffalo (*bubalus bubalis*) in southern Italy. *Veterinary Parasitology*, v. 91, p. 15-21, 2000.

HÄSLER, B.; STÄRK, K. D. C.; SAGER, H.; GOTTSTEIN, B.; REIST, M. Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* infection in Swiss dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 77, p. 254-283, 2006.

HOAR, B. R.; RIBBLE, C. S.; SPITZER, C. C.; SPITZER, P. G.; JANZEN, E. D. Investigation of pregnancy losses in beef cattle herds associated with *Neospora* sp infection. *Canadian Veterinary Journal*, v. 37, p. 364-366, 1996.

HOLMDAHL, O. J. M.; MATTSSON, J. G.; UGGLA, A.; JOHANSSON, K. E. The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA sequences. *FEMS Microbiology Letters*, v. 119, n. 1-2, p. 187-192, 1994.

HUONG, L. T. T., LJUNGSTROM, B. L., UGGLA, A., BJORKMAN, C. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Veterinary Parasitology*, v. 75, p. 53-57, 1998.

KASARI, R. T.; BARLING, K.; McGRANN, J. M. Estimated production and economic losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef herds. *Bovine Practice*, v. 33, p. 113-120, 1999.

KRITZNER, S.; SAGER, H.; BLUM, J.; KREBBER, R.; GREIF, G.; GOTTSTEIN, B. An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Clin. Microbiology*, v. 1, p. 4, 2002.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *American Journal of Veterinary Research*, v. 50, n. 11, p. 1981-1983, 1989.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; COLE, R. A.; NUEHRING, L. P.; BLAGBURN, B. L. *Neospora*-induced protozoal abortion in cattle. *Compendium*, v. 15, n. 6, p. 882-889, 1993.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; BLAGBURN, B. L. Finding the cause of parasite-induced abortions in cattle. *Veterinary Medicine*, v. 21, p. 64-71, 1996.

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

MARSH A. E.; BARR, B. C.; PACKHAM, A. E.; CONRAD, P. A. Description of a new *Neospora* specie (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *Journal of Parasitology*, v. 84, n. 5, p. 983-991, 1998.

MARTÍNEZ, S. E.; FERRE, I.; OSORO, K.; ADURIZ, G.; MOTA, R. A.; MARTÍNEZ, A.; DEL-POZO, I.; HIDALGO, C. O.; ORTEGA-MORA, L. M. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. *Theriogenology*, v. 67, p. 729-737, 2007.

MCALLISTER, M. M.; HUFFMAN, E. M.; HIETALA, S. K.; CONRAD, P. A.; ANDERSON, M. L.; SALMAN, M. O. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 8, n. 3, p. 355-357, 1996.

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 Parasitology*, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.

MCALLISTER, M. M. Uncovering the biology and epidemiology of *Neospora caninum*. *Parasitology Today*, v. 15, p. 216-217, 1999.

MEENAKSHI, K. S. S.; BALL, M. S.; KUMAR, S.; SHARMA, S.; SIDHU, P. K.; SREEKUMAR, C.; DUBEY, J. P. Soroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle and water buffaloes in India. *J. Parasitol.*, v. 93, p. 1374-1377, 2007.

MELO, C. B.; LEITE, R. C.; LEITE, F. S. C. ; LEITE, R. C. Serological surveillance on South American wild canids for *Neospora caninum*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v.54, n.4, 2002.

MINERVINO, A. H. H.; RAGOZO, A. M. A.; MONTEIRO, R. M.; ORTOLANI, E. L.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. *Veterinary Science*, 2007.

OSAWA, T.; WASTLING, J.; MALEY, S.; BUXTON, D.; INNES, E. A. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora* specific antibodies in bovine sera, bovine fetal fluids, ovine and caprine sera. *Veterinary Parasitology*, v. 79, n. 1, p. 19-34, 1998.

PACKHAM, A. E.; SVERLOW, K. W.; CONRAD, P. A.; LOOMIS, E. F.; ROWE, J. D.; ANDERSON, M. L.; MARSH, A. E.; CRAY, C.; BARR, B. C. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 5, n. 4, p. 467-473, 1998.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. Infection in cattle. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 7, p. 352-359, 1995.

PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calving mortality. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1996.

PARE, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *Journal American Veterinary Medicine Association*, v. 213, p. 1595-1598, 1998.

PICOUX, J. B.; ADLER, C.; CHASTANT, S.; MILLEMANN, Y.; REMY, D. La neosporose bovine: une cause majeure d'avortement ? *Bulletin de la Société Française de Médecine Vétérinaire*, v.82, n. 4, p. 177-201, 1998.

PITUCO, E. M.; SOARES, J. A. G.; OKUDA, L. H.; TROTTER, C. M.; PERUCINI, L. M.; DUARTE, F. C. Sorodiagnóstico de neosporose bovina no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.68, p.83, 2001. Suplemento. *Parasitology Research* Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2, 1998, São Paulo. Resumo 092.

RAGOZO, A .M. A. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. 2003. 74 f. *Tese (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada a Zoonoses)* – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

RODRIGUES, A. A. R.; GENNARI, S. M.; AGUIAR, D. M.; SREEKUMAR, C.; HILL, D. E.; MISKA, K. B.; VIANNA, M. C. B.; DUBEY, J. P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 124, n. 3-4, p. 139-150, 2004.

ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J. P. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection., v. 84, n. 1, p. 50-53, 1998.

ROMERO, J. J.; PEREZ, E.; FRANKENA, K. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rica dairy cows under field conditions. *Veterinary Parasitology*, v. 123, p. 149-159, 2004.

SANDERSON, M. W.; GAY, J. M.; BASZLER, T. V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, v. 90, n. 1-2, p. 15-24, 2000.

SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M. Y.; CANAVESSI, A. M. O. P.; PINCKNEY, R. D. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliadas pelo método de ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. *Semina Ciências Agrárias*, v. 24, p 3-10, 2003.

SARTOR, I. F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA L. C.; PITUCO, E. M.; DAL PAI, V.; SARTOR, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, v. 72, n. 4, p. 413-418, 2005.

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

SCHOCK, A.; INNES, E. A.; YAMANA, I.; LATHAM, S.M.; WASTLING, J. M. Genetic and biological diversity among isolates of *Neospora caninum*. *Parasitology*, v. 123, n.1, p. 13-23, 2001

SOUZA, L. M.; NASCIMENTO, A. A.; FURUTA, L. I.; BASSO, L. M.; SILVEIRA, D. M.; COSTA, A. J. Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no estado de São Paulo, Brasil. *Semina*, v. 22, p. 39-48, 2001.

THILSTED, J. P., DUBEY, J. P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 01, p. 205-209, 1989.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Strategies to control *neospora* infection in cattle. *Bovine Practitioner*, n. 29, p. 60-63, 1995.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *American Journal Veterinary Research*, v. 57, n. 11, p. 1559-1262, 1996.

TREES, A. J.; DAVINSON H. C.; INNES, E. A.; WASTLING, J. M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* v. 29, p.1195-1200, 1999.

YAEGER, M.J.; SHAWD-WESSELS, S.; LESLIE-STEEN, P. *Neospora* abortion storm in a midwestern dairy. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 6, p. 506-508, 1994.

YAMANE, I.; SHIBAHARA, T.; KOKUHO, T.; SHIMURA, K.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; CONRAD, P. A.; PARK, C. H.; SAWADA, M.; UMEMURA, T. Na improved isolation technique for bovine *Neospora* species. *J. Vet. Diagn. Investig.* v. 10, p. 364–368, 1998.

WOUDA, W.; MOEN, A.R.; VISSER, I.J.R.; VAN KNAPEN, F. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart and liver. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 9, p. 180-185, 1997.

WOUDA, W.; BRINKHOF, J.; VAN MAANEN, C.; GEE, A. L. W.; MOEN, A. R. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: a comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 5, n. 5, p. 711-716, 1998.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M. H.; MANEN, C.; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infection in dogs and cats. *International journal Parasitology*, v. 29, p. 1677-1682, 1999.

VOGEL, F. S. F., ARENHART, S., BAUERMAN, F. V. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p. 1948-1951, 2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)