

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

Prevalência de anticorpos para agentes da Tristeza Parasitária Bovina, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia Sp* em bovinos do nordeste do estado do Pará, Brasil.

Daniel da Silva Guedes Junior

2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**Prevalência de anticorpos para agentes da Tristeza
Parasitária Bovina, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia* sp
em bovinos do nordeste do estado do Pará, Brasil.**

Sob a Orientação do Professor
Adivaldo Henrique da Fonseca

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de *Magister Scientiae* em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2006

Guedes Jr, Daniel da Silva, 1977-
Frequência de anticorpos para
agentes da Tristeza Parasitária
Bovina, Trypanosoma vivax e
Borrelia Sp em bovinos do nordeste
do estado do Pará, Brasil./ Daniel
da Silva Guedes Junior. - 2006.
50f. : il.

Orientador: Adivaldo Henrique da
Fonseca.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Instituto de
Veterinária.

Bibliografia:

Bibliotecário: _____ **Data:** ___/___/___

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

DANIEL DA SILVA GUEDES JUNIOR

Dissertação submetida ao curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva, como requisito parcial para obtenção do grau de *Magister Scientiae* em Medicina Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 23 / 02 / 2006.

Adivaldo Henrique da Fonseca (Doutor) UFRRJ
(Orientador)

José Diomedes Barbosa Neto (PhD) UFPA

Flávio Ribeiro de Araújo (Doutor) EMBRAPA/CNPGC

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Daniel e Janete, meus avós (in memoriam), meus irmãos, Victor Hugo e Júlio César, minha namorada Vivian, e a meus amigos, que sempre se fizeram presentes na minha vida, nos momentos felizes e tristes. Por me mostrarem que a vida não tem sentido sem as pessoas que amamos. O mérito desta conquista é de vocês, por me conduzirem até aqui, apesar das dificuldades, e não deixarem que eu desviasse os olhos dos meus objetivos.

DEDICATÓRIA

A Deus, pelo dom da vida.

“Bendito o homem que confia no Senhor e cuja esperança é o Senhor. Porque ele é como a árvore plantada junto às águas, que estende as suas raízes para o ribeiro, e não receia quando vem o calor, mas a sua folha fica verde; e, no ano de sequidão não se perturba, nem deixa de dar fruto.” Jr 17:7,8.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Adivaldo Henrique Fonseca e professora Marília pela convivência e belo exemplo de postura profissional, além do fundamental apoio estrutural para a execução deste trabalho.

Aos meus amigos Charles Passos, Fábio Jorge Moreira, Huarrison Azevedo Santos, Raquel Lisboa, pelo companheirismo, cumplicidade, brigas e a amizade que sempre nos uniu.

A Cátia Marques, Nathalie Cunha, Renata Madureira, pela preciosa ajuda na parte experimental e teórica tornando possível a realização deste trabalho.

A Alessandra Scofield, Jania Rezende, Jenevaldo Barbosa, Luciana Almeida, Fabíola Corrêa e Rafaella Câmara pelo convívio e amizade.

Aos amigos João Telhado, Marta Fernanda Albuquerque, Rosana Botelho, Valéria Moura, Gilberto Botelho pela amizade, companheirismo, conselhos, broncas, apoio incondicional e por me incentivarem e acreditarem em mim.

A amiga Samira Abdalla pela amizade, companheirismo e apoio durante o nosso convívio.

Aos amigos Carlos Henrique Machado, Ananias C. Francisco, Antônio Carlos Valentim Neves, Hermenegilda Mariano da equipe do laboratório de Patologia Clínica por me receberem tão bem, me apoiando e incentivando durante o período que convivemos. Certamente vocês tornaram o trabalho mais agradável.

Aos professores Luís Carlos Reis, Paulo e Rita Botteon, que me apresentaram a Veterinária como pesquisa, que tanto me ensinaram enquanto acadêmico e ainda continuam ensinando.

Aos amigos Dr. Flávio Araújo, Dr. Cláudio Madruga, Dr. Cléber Soares, Dr^a. Gracia Rosinha, e toda equipe do laboratório de Biologia Molecular e Sorologia da EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande – MS. Pelo total apoio, suporte e ensinamentos que tornaram possível a execução deste trabalho.

Aos Professores José Eugênio Três e Vera Lucia Teixeira de Jesus por darem suporte a realização deste trabalho, e os funcionários da área de reprodução Orozimbo Moreira Soares, José Xavier Cordeiro, Reneu de Souza, Paulo Luis Bernardo, Severino Luis Bernardo, Romildo Rodrigues Bastos.

Ao Professor José Diomedes Barbosa Neto e sua equipe da Universidade Federal do Pará.

A EMBRAPA Agrobiologia- Em especial ao técnico Geraldo Cruz Baeta, pela disponibilidade de equipamentos e boa vontade que prontamente contribuiu para a execução deste trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro indispensável.

Ao Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária por ter permitido a execução deste trabalho.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente na execução da dissertação.

MEU MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA

Daniel da Silva Guedes Junior, filho de Daniel da Silva Guedes e Janete da Silva Guedes, nascido em 20 de novembro de 1977, na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro (RJ), onde cursou o ensino fundamental na Escola Municipal Goiás, concluindo o ensino médio no Colégio Estadual Visconde de Cairú, concluído em 1994.

No ano de 1998, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), colando grau e obtendo o título de Médico Veterinário em 30 de setembro de 2003.

Durante o período acadêmico realizou estágios na área de Anatomia Animal, Fisiologia Animal, Bacteriologia. Participou ativamente do Projeto Pé na Estrada onde teve a oportunidade de vivenciar a importância da Medicina Veterinária para a população carente dos arredores *campus* da Universidade. Participou também do Projeto de Controle de Natalidade da População Canina e Felina, incluindo as práticas clínica, cirúrgica e orientação da população quanto a bem estar animal. Foi Bolsista de Iniciação Científica pelo CNPq de abril de 2001 a agosto de 2003, participando de projetos de Pesquisa no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, onde também foi Bolsista de Aperfeiçoamento Científico do CNPq de outubro de 2003 a fevereiro de 2004.

Em maio de 2004 foi aprovado no concurso Público para professor substituto das disciplinas Patologia Clínica e Terapêutica Clínica do Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária do Instituto de Veterinária da UFRRJ.

Em março de 2004 ingressou no Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ – Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva, em nível de Mestrado, onde foi bolsista da CAPES entre março de 2004 até o presente momento. E, nesta data, apresenta e defende esta dissertação como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

RESUMO

GUEDES JR, Daniel da Silva. **Prevalência de anticorpos para agentes da Tristeza Parasitária Bovina, Trypanosoma vivax e Borrelia Sp em bovinos do nordeste do estado do Pará, Brasil.** Seropédica: UFRRJ, 2006. 83p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária, Medicina Preventiva).

A babesiose e a anaplasnose juntamente com a tripanossomose e a borreliose são patologias de importância por causarem, potencialmente, morbidade no rebanho bovino, causando prejuízos à economia. O presente trabalho teve como objetivo investigar, através do teste ELISA indireto, a prevalência de anticorpos para *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* em bovinos avaliando o risco de surtos de doenças. Foram utilizadas amostras de soro de 246 bovinos fêmeas, adultas, provenientes dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá, região nordeste do estado do Pará com registros de deficiência de Cobre e Cobalto. Foi feita sorologia através do ensaio imunoenzimático ELISA indireto, utilizando-se antígenos brutos para os agentes: *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi*. Em relação ao *Anaplasma marginale*, foi utilizado a proteína recombinante MSP1a como antígeno. A análise dos 246 soros revelou a prevalência para *B. bigemina* de 99,2%, *B. bovis* 98,8 %, *A. marginale* 68,3%, *T. vivax* 93,1% e *Borrelia* sp 54,9%. Os municípios estudados foram caracterizados como enzooticamente estáveis para *B. bigemina*, *B. bovis* e *T. vivax*, e enzooticamente instáveis para *A. marginale* e *Borrelia* sp. Apesar da estabilidade prevista para alguns agentes na área do estudo, casos de babesiose, anaplasnose e tripanossomose com doença clínica ocorrem na região, desenvolvendo diminuição da resposta imune e da imunorreatividade orgânica dos animais.

Palavras chave: Babesiose, tripanossomose, anaplasnose, deficiência mineral.

ABSTRACT

GUEDES JR, Daniel da Silva. **Seroprevalence of Antibodies for *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia* sp in Cattle from Northeastern of Pará State, Brazil.** Seropédica: UFRRJ, 2006. 83p. (Dissertation, Master in Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine).

The babesiosis and anaplasmosis together with trypanosomosis and borreliosis are important diseases by causing, potentially, morbidity in cattle herd, leading to economic damage. The objective of this work was to determine through indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the prevalence of *B. bigemina*, *B. bovis*, *A. marginale*, *T. vivax* and *Borrelia* sp. Antibodies in cattle assessing the disease risk. In this study were used 246 serum samples of female adult cattle of Castanhal and São Miguel do Guamá, northeastern Pará counties, local with copper and cobalt deficiency record. On the serologic technique were used crude antigen to detect antibodies against *B. bigemina*, *B. bovis*, *T. vivax* and *Borrelia* sp. For the detection of *A. marginale* antibodies, recombinant major surface protein (MSP1a) were used as antigen for indirect ELISA. The prevalence of the serum samples analyzed in the municipalities studied was: *B. bigemina* 99,2%, *B. bovis* 98,8%, *A. marginale* 68,3%, *T. vivax* 93,1% and *Borrelia* sp 54,9%. The municipalities were considered stable enzootic areas for *B. bigemina*, *B. bovis* and *T. vivax*, but unstable for *A. marginale* and *Borrelia* sp. In spite of the stability detected for some studied areas, babesiosis, anaplasmosis and tripanosomosis cases with clinical disease happen in the studied region, possibly caused by the mineral deficiency that decrease the immune response and immunoreactivity of the animals.

Key words: Babesiosis, tripanossomosis, anaplasmosis, mineral deficiency.

ÍNDICE DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1- Conversão dos títulos sorológicos em Unidades Internacionais (U.I.).....	30
Tabela 2- Comparação da técnica sorológica rosa bengala (RB) frente à prova de reação de fixação de complemento (RFC) aplicadas ao diagnóstico da brucelose por <i>Brucella abortus</i> em 428 amostras de soros bovinos.....	31
Tabela 3- Valores epidemiológicos relativos obtidos a partir da comparação do teste rosa bengala (RB) com o teste de referência reação de fixação de complemento (RFC).....	34
Tabela 4- Resultados obtidos no teste rosa bengala (RB) comparativamente à prova de reação de fixação de complemento (RFC) para o diagnóstico de <i>Brucella abortus</i> em 428 amostras de soros bovinos.....	37
Tabela 5- Comparação da técnica sorológica 2-mercaptoetanol (2-ME) frente à prova de reação de fixação de complemento (RFC) aplicadas ao diagnóstico da brucelose por <i>Brucella abortus</i> em 428 amostras de soros bovinos.....	40
Tabela 6- Valores epidemiológicos relativos obtidos a partir da comparação de 2-Mercaptoetanol (2-ME) com o teste de referência reação de fixação de complemento (RFC).....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Mapa do Estado do Pará.....	17
Figura 2. Distribuição do índice das densidades óticas dos soros em relação ao “cut-off” (DOx100/”cut-off”) obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para <i>Babesia bigemina</i> ; <i>B. bovis</i> ; <i>Anaplasma marginale</i> ; <i>Trypanosoma vivax</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> de bovinos do município de São Miguel do Guamá (n =181) - estado do Pará. Cada ponto representa o soro de um animal.....	25
Figura 3. Distribuição do índice das densidades óticas dos soros em relação ao “cut-off” (DOx100/”cut-off”) obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para <i>Babesia bigemina</i> ; <i>B. bovis</i> ; <i>Anaplasma marginale</i> ; <i>Trypanosoma vivax</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> de bovinos do município de Castanhal (n =65) - estado do Pará. Cada ponto representa o soro de um animal.....	26
Figura 4. Distribuição do índice das densidades óticas dos soros em relação ao “cut-off” (DOx100/”cut-off”) obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para <i>Babesia bigemina</i> ; <i>B. bovis</i> ; <i>Anaplasma marginale</i> ; <i>Trypanosoma vivax</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> de bovinos do município de Castanhal e São Miguel do Guamá (n =246) - estado do Pará. Cada ponto representa o soro de um animal.....	27

ÍNDICE DE GRÁFICO

	Páginas
Gráfico 1. Normal referente à precipitação pluviométrica (mm) e temperatura média das máximas e mínimas (0C) e umidade relativa (%) da região metropolitana da grande Belém, estado do Pará.....	18
Gráfico 2. Estudo do Perfil da Produção de anticorpos IgG no Bovino Utilizado como Controle Positivo para <i>B. burgdorferi</i>	47

ÍNDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo 1. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para <i>Babesia bigemina</i> de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.....	61
Anexo 2- Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para <i>Babesia bovis</i> de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.....	66
Anexo 3. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para <i>Anaplasma marginale</i> de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.....	71
Anexo 4. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para <i>Trypanosoma vivax</i> de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.....	76
Anexo 5. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para <i>Borrelia burgdorferi</i> de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.....	81
Anexo 6. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para <i>Babesia bigemina</i> ; <i>B. bovis</i> ; <i>Anaplasma marginale</i> ; <i>Trypanosoma vivax</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> de bovinos município de São Miguel do Guamá (n=181) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.....	86
Anexo 7. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para <i>Babesia bigemina</i> ; <i>B. bovis</i> ; <i>Anaplasma marginale</i> ; <i>Trypanosoma vivax</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> de bovinos do município de Castanhal (n=65) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.....	90
Anexo 8. Prevalência dos agentes nos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá, segundo o teste de Pearson Qui-quadrado com correção de Yates.....	92

SUMÁRIO

	Páginas
1-INTRODUÇÃO	1
2-REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Babesia bigemina e B. bovis	3
2.2. Anaplasma marginale	6
2.3. Trypanosoma vivax	8
2.4. Borrelia sp.	12
2.5. Deficiência Mineral em Ruminantes	15
3-MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1. Origem dos Animais	17
3.2. Animais Estudados	17
3.3. Antígenos de Babesia bigemina, B. bovis e Trypanosoma vivax	18
3.4. Obtenção do Antígeno Recombinante de Anaplasma marginale	18
3.5. Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) Indireto para Anticorpos contra Babesia bigemina, Babesia bovis, Anaplasma marginale e Trypanosoma vivax	19
3.6. Obtenção do Antígeno de Borrelia burgdorferi	20
3.7. Obtenção do Controle Positivo para Borrelia burgdorferi	20
3.8. Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) Indireto para Anticorpos Homólogos a Borrelia burgdorferi	21
3.9. Organização dos Soros Teste na Placa para Execução do Ensaio ELISA Indireto	21
3.10. Determinação da linha de corte (“Cut-off”) dos ELISAs para anticorpos contra B. bigemina, B. bovis, A. marginale, T. vivax e Borrelia burgdorferi	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24

4.1- Estudo Sorológico de Bovinos do Nordeste do Pará.....	24
4.1.1- Estudo da prevalência de <i>Babesia bigemina</i>	24
4.1.2- Estudo da prevalência de <i>Babesia bovis</i>	28
4.1.3- Estudo da prevalência de <i>Anaplasma marginale</i>	32
4.1.4- Estudo da prevalência de <i>Trypanosoma vivax</i>	35
4.1.5- Estudo da prevalência de <i>Borrelia</i> sp.....	38
4.2- Estudo da Prevalência de <i>Babesia bovis</i> , <i>B. bigemina</i> , <i>A. marginale</i> , <i>Trypanosoma vivax</i> e <i>B. burgdorferi</i>	41
4.3- Estudo do Perfil da Produção de Anticorpos IgG no Bovino Utilizado como Controle Positivo para <i>B. burgdorferi</i>	46
5. CONCLUSÕES	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

No ecótopo amazônico brasileiro, o estado do Pará tem o segundo maior território, com uma área total de 1.277.530 Km², dividido em 127 municípios, agrupados em 22 microrregiões. Apresenta como efeito da atividade agropecuária cerca de 35% do produto interno bruto, dado que indica em números a importância da agropecuária na economia regional (IBGE, 2000). O rebanho bovino é de aproximadamente 13.376.606 cabeças, equivalente a metade do rebanho de toda a região norte, e 700.000 bubalinos que perfazem 50% da população nacional de bubalinos (IBGE, 2003).

Algumas enfermidades parasitárias constituem-se em fatores limitantes ao desenvolvimento da atividade pecuária bovina em áreas de clima tropical, subtropical e equatorial úmido, entre as quais se destacam as hemoparasitoses. Estas doenças têm o potencial de limitarem o desenvolvimento da produção e produtividade dos animais (BROWN, 1997). No Brasil, a babesiose bovina é causada pelos protozoários *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* e a anaplasmose é causada pela riquetsia *Anaplasma marginale*, todos transmitidos pelo carrapato *Boophilus microplus* (KESSLER & SCHENK, 1998). Outra hemoparasitose relevante na região é a tripanossomose por *Trypanosoma vivax* (MADRUGA *et al.* no Prelo). A ocorrência de *Borrelia sp* tem sido relatada em bovinos no Brasil (FONSECA *et al.* 1996; ISHIKAWA (1996); ISHIKAWA (2000) e SOARES *et al.* 2000).

As hemoparasitoses são responsáveis por severos danos à saúde dos ruminantes, com grande impacto econômico na pecuária bovina mundial (KUTTLER, 1988). A dinâmica da infecção por *Babesia spp.* é dependente de fatores como população de carrapatos infestantes; capacidade de transmissão do carrapato; susceptibilidade dos bovinos, que pode variar com a raça, idade, estado fisiológico e imunitário (GUGLIELMONE, 1995).

O estudo epidemiológico das hemoparasitoses bovinas em uma determinada área é importante, pois pode revelar o risco de surtos de doença clínica. Os testes sorológicos são ferramentas imprescindíveis na avaliação da prevalência, condição imunológica e para o controle das hemoparasitoses, assim como dos carrapatos transmissores

(MAHONEY, 1975; MAHONEY & ROSS 1972; ARAÚJO *et al.* 1998). Além disso, também servem para orientar decisões sobre manejo, tais como necessidade ou não de vacinação e outros fatores relacionados a manutenção da sanidade animal.

O desequilíbrio na concentração de micronutrientes, particularmente sua deficiência, afeta a imunidade e a resistência dos bovinos. As deficiências minerais estão relacionadas às áreas geográficas, podendo ocorrer em diversos graus, desde deficiências severas com perturbações mais ou menos características, até deficiências leves, com sintomas inespecíficos como desenvolvimento lento, problemas de fertilidade, baixo rendimento de carcaça e pouca produção de leite.

O presente estudo teve como objetivo investigar, através do teste ELISA indireto, a prevalência de anticorpos para *B. bigemina*, *B. bovis*, *A. marginale*, *T. vivax* e *Borrelia burgdorferi* em bovinos na região nordeste do do Pará, avaliando o risco de surtos de doença na região indicando áreas susceptíveis e focos de TPB, tripanossomose e borreliose em bovinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Babesia bigemina* e *B. bovis*

A tristeza parasitária bovina (TPB) é o nome dado a um conjunto de sinais e sintomas determinados por agentes etiológicos distintos, que no Brasil é causada principalmente pelos protozoários *Babesia bigemina* Smith & Kilborne (1893) e *Babesia bovis* Babés (1888) e pela rickettsia *Anaplasma marginale* Theiler (1919). Estes parasitos são intraeritrocitários e durante o seu ciclo no hospedeiro, determinam processo anemiante. A TPB é de grande importância em decorrência das perdas econômicas relacionadas diretamente a doença e indiretamente, pelo custo do tratamento. A morbidade determinada pela TPB é alta nos países de clima tropical e subtropical o que pode estar relacionado a custos relativos, baixo ganho de peso e/ou queda da produção. O carrapato *Boophilus microplus* é o principal responsável pela transmissão dos agentes da TPB no Brasil.

As babesioses determinadas pelas espécies *B. bigemina* e *B. bovis*, ocorrem nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, entre os paralelos 32° N e 32° S, região onde também se encontra o carrapato *B. Microplus*. A Anaplasmose ocorre tanto em regiões tropicais e subtropicais como em zonas temperadas, pelo fato de terem outras possíveis fontes de transmissão (RIET-CORREA *et al.*, 2001). A distribuição da doença deve continuar a mudar devido à tendência de aquecimento global, que influencia o movimento dos hospedeiros do carrapato (KOCAN *et al.*, 2003).

Diferentes isolados geográficos de organismos do gênero *Babesia* diferem antigênica e geneticamente (DE VOS *et al.* 1983, DALRYMPLE, 1992) e os isolados australianos de *B. bigemina* não representam um problema sanitário importante, ao contrário dos encontrados na África do Sul, que são altamente virulentos (PURNELL, 1981, WRIGHT & GOODGER 1988).

Babesia bovis determina um quadro de anemia discreta, palidez de mucosas, febre, depressão e, distúrbios neurológicos; muitas vezes mimetizando sintomas de outras patologias, como a raiva dos bovinos e intoxicações por plantas causadoras de doenças neurológicas. A característica viscerotrópica bloqueante de *B. bovis* é que

determina a gravidade da enfermidade, fenômeno nem sempre perceptível ao exame clínico.

O período de incubação da babesiose bovina é de 7 a 10 dias, sendo que *B. bovis* é transmitida aos bovinos por larvas a partir do primeiro dia de parasitismo, já *B. bigemina*, só é transmitida pelo estágio de ninfa e adulto, ou seja, cerca de 8 dias após a fixação das larvas (MASSARD *et al.*, 1998). *Anaplasma marginale* tem o período de incubação superior a 20 dias. Portanto, quando bovinos não imunizados são introduzidos em um pasto infestado por carrapatos infectados pelos agentes da TPB, após os 10 dias de incubação, surgem os primeiros casos de TPB primeiramente por *B. bovis*, dias mais tarde surgem casos por *B. bigemina*, que podem coincidir com casos de *A. marginale* (KESSLER & SCHENCH, 1998).

O aspecto mais relevante para a epidemiologia da babesiose é a relação inversa com a idade devido a imunidade inespecífica. Infecções primárias em bezerros abaixo de sete meses, em geral não resultam em sinais clínicos, e o desenvolvimento de imunidade duradoura não é dependente de reinfecção (MAHONEY *et al.* 1973).

A dinâmica de infecção por *Babesia* spp. é dependente da população de vetores infectados pelo agente, pela capacidade de transmissão do carrapato e susceptibilidade dos hospedeiros que pode variar segundo raça, idade, estado fisiológico e imunitário (SOARES, *et al.*, 2000).

Em condições de clima tropical e subtropical a babesiose geralmente assume características de estabilidade enzoótica devido à contínua exposição ao protozoário através de seu vetor, desta forma, os bovinos desenvolvem imunidade, sendo pouco freqüente a doença clínica em gado nativo (SOUZA *et al.* 2000a). Isto ocorre em rebanhos onde mais de 75% dos animais são suficientemente expostos a carrapatos infectados antes dos nove meses de idade e tornam-se imunizados e soropositivos. Uma situação de instabilidade enzoótica ocorre quando os animais são expostos a baixos níveis de carrapatos infectados com o agente, com isto, há um número variável de animais (10 a 75%) abaixo de nove meses desenvolvendo baixa ou nenhuma imunidade contra o agente, possibilitando o aparecimento de doença clínica entre os animais, mediante ao contato com o vetor infectado. Esta situação pode se agravar, quando há um aumento na população de vetores, por algum fenômeno climático casual, levando a uma exposição da população hospedeira sensível aos vetores infectados, possibilitando o aparecimento de surtos da doença. Já em situações em que menos de 10% da população de animais foram expostos aos patógenos antes de nove meses, resulta em

um rebanho susceptível, mas com baixo risco de doença porque a taxa de inoculação é insuficiente para infectar os animais. Entretanto, qualquer doença representaria alto risco para animais susceptíveis (MAHONEY, 1974).

SOUZA *et al.* (2000 a), em um estudo com bovinos da mesorregião do médio Paraíba do estado do Rio de Janeiro, encontrou 84,75% de reatividade ao ELISA indireto para *B. bigemina*, e 91,03% para *B. bovis*, sendo considerada uma região enzoóticamente estável. Entretanto, no estudo da mesorregião norte Fluminense do estado do Rio de Janeiro, esta foi considerada enzooticamente instável em relação a *B. bigemina*, por apresentar soroprevalência de 69,74% e enzooticamente estável quanto a *B. bovis* com 91,16% soropositividade ao ELISA indireto.

Na região do Chaco da Bolívia, CARRIQUE MAS, *et al.* (2000) relataram ser uma zona de instabilidade endêmica para a anaplasmose, e babesioses, ressaltando a importância da vacinação do gado como forma de garantir a imunidade, ou fazer o controle de carrapatos, que seria mais oneroso e não necessariamente preveniria a transmissão de *A. marginale*.

Uma ferramenta apropriada para decidir as medidas preventivas de controle para manejo e produção animal é uma análise dos parâmetros imunológicos do rebanho em relação a *B. bigemina* e *B. bovis*. Entretanto, estas análises expressam somente o resultado final da complexa interação *Babesia-Boophilus-bovino*, acrescentando pouca informação para definição do papel preciso dos diferentes fatores envolvidos (GUGLIELMONE, 1995).

Segundo MASSARD (1999), o diagnóstico laboratorial direto das babesioses pode ser feito através de esfregaços sanguíneos corados pelo método Giemsa, onde é possível observar os agentes. O exame direto pode ser auxiliado pelo indireto através de imunoenaios como a fixação de complemento, técnicas de aglutinação, congutinação, imunofluorescência indireta, ensaio de imunoadsorção enzimático (ELISA indireto) e ainda técnicas moleculares como a reação de polimerase em cadeia (PCR).

As provas sorológicas são os métodos mais adequados e práticos para se conhecer a situação epidemiológica das babesioses, a imunofluorescência indireta (IFI) e o ELISA indireto, são, provavelmente as mais utilizadas devido a elevada sensibilidade na detecção de anticorpos para *Babesia* spp. sendo o ELISA o que confere melhores resultados além da automação na leitura, permitindo a análise de um maior número de soros (ARAÚJO *et al.*, 1998).

2.2. *Anaplasma marginale*

A anaplasmoze bovina é uma doença causada pela Rickettsia *Anaplasma marginale*, pertencente à família Anaplasmataceae. Os corpúsculos iniciais se localizam dentro dos eritrócitos, em vacúolos ligados à membrana contendo de quatro a oito corpúsculos. O período de incubação da infecção em média é de 28 dias, variando de acordo com o número de organismos inoculados. Os eritrócitos infectados são fagocitados pelo sistema fagocítico mononuclear, resultando em anemia e icterícia, geralmente, sem hemoglobinemia e hemoglobinúria (KOCAN *et al.*, 2003). Os sintomas incluem: Hipertermia, letargia, perda de peso, aborto, icterícia e até morte. Os animais que sobrevivem à infecção aguda desenvolvem infecção persistente caracterizada por baixos níveis de rickettsemia. Os animais portadores desempenham papel de reservatórios de *A. marginale*, pois são fontes de sangue infectado. Alguns aspectos epidemiológicos são compartilhados pela anaplasmoze e babesiose. É menos provável que a infecção primária em bezerros possa resultar em doença clínica, desenvolvendo uma imunidade longa e duradoura (GUGLIELMONE, 1995).

A anaplasmoze bovina causa importantes prejuízos econômicos, principalmente devido à alta morbidade e mortalidade em rebanhos bovinos susceptíveis. Estas perdas são medidas por diversos parâmetros, como redução de peso e da produção de leite, abortos, custos com tratamentos e mortalidade. No entanto, poucos estudos controlados foram conduzidos para determinar os prejuízos com anaplasmoze. No Brasil, as perdas econômicas com a TPB são consideráveis, atingindo, segundo estimativas do Ministério da Agricultura, atualizadas por GRISI *et al.* (2002), 500 milhões de dólares anuais, na qual *A. marginale* teria uma das principais participações nesse valor. Em geral, estes estudos não contemplam um dos mais importantes impactos: a limitação do uso de raças européias (*Bos taurus*), sabidamente mais susceptíveis a anaplasmoze, em programas de melhoramento genético nos países de clima tropical (KOCAN *et al.*, 2003). Dessa forma, os esforços na busca de programas mais eficazes de controle desta enfermidade são justificáveis (ARAÚJO *et al.*, 2005b).

Os carrapatos ixodídeos e, particularmente no Brasil, a espécie *B. microplus*, são os principais vetores responsáveis pela transmissão biológica, que pode ocorrer também transestadialmente e intraestadiamente, salientando a importância epidemiológica dos machos, devido a sua grande mobilidade e longevidade, servindo também como

reservatório de *A. marginale* (KESSLER, 2001; KOCAN *et al.*, 1992). De acordo com RIBEIRO *et al.* (1995), a transmissão transplacentária e intra-uterina pode ocorrer em vacas portadoras crônicas. Transfusões de sangue, cirurgias coletivas (castrações e descornas), vacinações com pistolas automáticas, dispositivos para marcação em orelhas, constituem maneiras de transmissão de *Anaplasma spp* e outros patógenos. Esta forma de transmissão, chamada iatrogênica, pode ser controlada por medidas higiênicas. A transmissão por insetos hematófagos como moscas e mosquitos é considerada a maior via de disseminação de *A. marginale* em áreas da América do Sul e Central, onde o carrapato não ocorre e onde o carrapato *B. microplus* não parece ser o vetor biológico da doença (KESSLER, 2001).

Muitas técnicas sorológicas têm sido desenvolvidas nas últimas décadas como a fixação de complemento, aglutinação em tubo capilar, aglutinação rápida e imunofluorescência indireta. Todas estas técnicas utilizam uma mistura de antígenos brutos de *A. marginale*, conseqüentemente, há potencial para reações falso-positivos e falso-negativos devido à contaminação por componentes eritrocitários (ARAÚJO *et al.*, 2005b). A melhoria do diagnóstico sorológico pode ser atingida pela seleção de antígenos tanto específicos para o agente infeccioso quanto comuns a todas as cepas do organismo e pelo desenvolvimento de um ensaio sorológico baseado principalmente em um sistema sensível de detecção deste antígeno (PALMER *et al.*, 1986). Dentre as técnicas sorológicas desenvolvidas nas últimas décadas, o Ensaio imunoabsorção enzimático (ELISA) indireto é o mais vantajoso principalmente por causa de sua automação e sensibilidade. Apesar disto, há potencial para reações falso positivo quando antígenos brutos são utilizados (ARAÚJO *et al.*, 2005b).

Avanços nas tecnologias bioquímica, imunológica e molecular têm sido aplicados à pesquisa, sendo identificadas na membrana de *A. marginale* inicialmente seis proteínas principais de superfície (Major Surface Proteins - MSPs): MSP1a, MSP1b, MSP2, MSP3, MSP4 e MSP5 (BARBET *et al.*, 1987; OBERLE *et al.*, 1988; TEBELE *et al.*, 1991; OBERLE *et al.*, 1993), com potencial para o diagnóstico sorológico. ARAÚJO *et al.* (2005b), relataram que a especificidade do ELISA indireto com proteína recombinante MSP1a e MSP2 (100%), foi maior que o ELISA utilizando antígeno bruto (94%) (MADRUGA *et al.*, 2000a) e que o ELISA competitivo (95%) (TORIONI DE ECHAIDE *et al.*, 1998). A mais alta especificidade do ELISA indireto utilizando proteína recombinante MSP1a e MSP2 pode ser devido à ausência de contaminação do antígeno com proteínas eritrocitárias, os quais estão associadas a

reações falso-positivos devido a anticorpos antieritrócito presentes nos soros teste (BARRY *et al.*, 1986). Em relação a mais baixa especificidade do ELISA competitivo comparado ao ELISA utilizando MSP1a e MSP2, pode ser devido à proteína ligada a maltose (MBP) acoplada a MSP5, o qual pode induzir a reações falso-positivo pela presença de anticorpos contra esta proteína no soro de animais testados. Isto não ocorre no ELISA indireto utilizando MSP1a e MSP2 pela ausência desta proteína (TORIONI DE ECHAIDE *et al.*, 1998).

A mais alta sensibilidade e especificidade no teste ELISA utilizando MSP1a e MSP2 associados de ambos antígenos por anticorpos do soro de bovinos de diferentes regiões do Brasil, sugerem que este teste sorológico pode ser usado para a detecção de anticorpos para *A. marginale* em estudos epidemiológicos (ARAÚJO *et al.*, 2005b).

2.3. *Trypanosoma vivax*

Os tripanossomas são organismos unicelulares (Filo Protozoa) pertencentes ao gênero *Trypanosoma*, a família Trypanosomatidae e a ordem Kinetoplastida. Muitas espécies de tripanossoma ocorrem como parasitos de uma ampla variedade de animais e até mesmo plantas. Em se tratando dos tripanossomas patogênicos aos animais, ocorrem em hospedeiros vertebrados e fluidos teciduais dentro do grupo dos chamados hemoflagelados, pelo seu movimento do filamento espiralado chamado flagelo. Algumas espécies foram disseminadas da África para outros continentes onde não ocorria, por exemplo, *Trypanosoma vivax* (Sub gênero Duttonella) foi introduzido nas Américas pela importação de gado do oeste africano nos séculos XVII e XIX, e provavelmente, *T. evansi* (sub gênero *Trypanozoon*) saiu da África na mesma época pelo movimento de animais, em particular camelos, entre África e Ásia.

O primeiro caso de *T. vivax* no Brasil foi descrito por BOULHOSA (1946), no estado do Pará. Após este relato, muitos pesquisadores incriminaram este agente como causador de doença clínica em bovinos como SILVA *et al.* (1996) na região do Pantanal do Mato Grosso, sendo também diagnosticado em gado de corte também do Pantanal, só que no estado do Mato Grosso do Sul, indicando a disseminação do agente para áreas onde os vetores estão presentes (PAIVA *et al.*, 1997). Estes surtos descritos em bovinos do Pantanal foram severos mostrando alta morbidade entre os animais, com febre, anemia, perda de peso, letargia, aborto e mortalidade (DÁVILA *et al.*, 2003).

Na Bolívia a fauna de ungulados é muito rica e coexiste com o gado doméstico, servindo como importante reservatório de infecção. Evidências históricas indicam que a tripanossomose bovina, nas províncias de Santa Cruz, teve um efeito devastador indicando que *T. vivax* tem potencial de se tornar uma doença importante de bovinos na Bolívia (SILVA *et al.*, 1998).

RIET-CORRÊA (2003) relatou um surto de tripanossomose em bovinos mestiços do estado da Paraíba. Os animais apresentaram queda de produção, depressão, anorexia, febre, severa anemia, epistaxes e perda progressiva de peso. Alguns casos apresentaram sinais neurológicos como incordenação, tremores musculares, opistótono e hipermetria.

Duas espécies de tripanossoma africano tiveram sucesso na adaptação a chamada transmissão mecânica por vários dípteros hematófagos; Não há ciclo biológico ou multiplicação nestes dípteros, eles agem como uma agulha, quando se alimenta do sangue de um animal infectado, e muda de animal para novo repasto, transfere pequena quantidade de sangue para o novo hospedeiro, podendo causar infecção se o intervalo entre alimentação for suficientemente pequeno para a sobrevivência dos tripanossomas. Isto pode acontecer quando um animal infectado interrompe o repasto do díptero com movimento da cauda ou outro movimento e o inseto continua a se alimentar em outro hospedeiro. Os mais importantes destes vetores mecânicos são os Tabanídeos, moscas dos estábulos e insetos relacionados, como o grupo das *Stomoxys sp* (UILENBERG, G. 1998).

A importância da transmissão mecânica é variável de um lugar para outro, dependendo do número de hospedeiros e dípteros hematófagos do local e também das espécies de tripanossoma. Dípteros hematófagos maiores como os tabanídeos carregam mais sangue e são mais propensos a agirem como vetores mecânicos do que mosquitos. Este modo de transmissão provou ser suficientemente efetivo para a manutenção de *T. vivax* na América do Sul e Central bem como *T. Evansi* no norte da África e Ásia (UILENBERG, G. 1998).

Na América Latina, onde não há o díptero tsetse, a transmissão de *T. vivax* é considerada ser principalmente devido a tabanídeos e *Stomoxys spp* (DESQUESNES & DIA, 2004).

A transmissão iatrogênica pode ocorrer quando a mesma agulha ou instrumentos Veterinários são usados em mais de um animal, em intervalos curtos o suficiente para que o sangue neles presente não seque. Isto é muito comum quando os

animais são vacinados, tratados com medicamentos que usem agulhas ou quando sangue é coletado dos animais sem trocar ou desinfetar as agulhas ou instrumentos. Isto também pode ocorrer quando os animais são submetidos a intervenções cirúrgicas em curto espaço de tempo, como: Castrações, descornas cirúrgicas, etc (UILENBERG, G. 1998).

Todas as espécies de tripanosoma são ocasionalmente transmitidas congenitamente, da mãe para a prole, tanto pela placenta, quando o animal está no útero, quanto pelo sangramento durante o parto. A transmissão congênita de *T. vivax* já foi observada na América Latina assim como na África, mas a sua importância ainda não é bem conhecida (UILENBERG, G. 1998).

As condições de manejo do rebanho são cruciais na epidemiologia da tripanossomose bovina. O padrão das atividades diárias dos vetores dípteros envolvidos e os padrões de pastejo do rebanho são de grande influência. Se os rebanhos pastam em áreas infectadas em horários do dia em que os vetores são mais ativos, a transmissão vai ocorrer mais frequentemente. Também podem ocorrer surtos sazonais, onde a população de dípteros picadores é influenciada por diferenças climáticas sazonais. A doença crônica muitas vezes se torna mais clinicamente aparente durante as estações secas, quando fatores imunodepressivos como pobre estado nutricional diminuindo sua defesa imunológica, mesmo quando a infecção ocorreu durante as chuvas. De acordo com SEIDL *et al.* (1999), os custos de um surto de tripanossomose bovina dividem-se em três categorias: Mortalidade, aborto, infertilidade e tratamento. Sendo que os custos de infertilidade ficam com a maior parcela dos prejuízos.

A susceptibilidade racial e de espécie, também são fatores de grande importância. Em áreas onde a tripanossomose é um problema, principalmente onde há presença da mosca tsetse, a criação de raças tripanotolerantes faz com que as perdas sejam inaparentes, mesmo que estas raças possam não ser muito produtiva quando o desafio é alto.

DÁVILA *et al.* (2003) encontraram correlação entre a alta prevalência no diagnóstico molecular e a estação chuvosa. Ressaltando que os dípteros hematófagos das famílias Tabanidae e Stomoxinae, são tipicamente associadas à estação das chuvas e podem alcançar altas densidades, resultando em altas prevalências do parasito e surtos da doença. Independente da estação, a alta prevalência de *T. vivax*, está relacionada às altas densidades de vetores.

A hipótese de que bovinos podem estar atuando como reservatório de *T. vivax* é sustentada por DÁVILA *et al.* (2003), pelo fato dos bovinos positivos e negativos pelo PCR não apresentaram diferença significativa no volume globular. Normalmente anemia é relacionada a parasitemia no estágio inicial da infecção, depois se a parasitemia é baixa, seria esperado valores normais para volume globular. A alta prevalência e baixa parasitemia encontradas no estudo destes autores fornecem indicações fortes de que animais podem estar infectados e carrear *T. vivax* enquanto apresenta valores normais de volume globular e sem Sinais clínicos. Ainda que em situações enzoóticas a doença se torne oculta, ainda é capaz de produzir perdas econômicas como perda de peso e queda na produção de leite (OTTE *et al.*, 1994).

De acordo com DÁVILA *et al.* (1997), há outras condições particulares no Pantanal que podem contribuir a transmissão de *T. vivax* e *T. evansi*. Durante o prolongado período de cheia do Pantanal (5-6 meses), há uma redução na área disponível para pastejo. Por isso, os animais domésticos e silvestres, procuram refúgio em áreas secas limitadas da floresta. Como resultado, a transmissão por dípteros picadores se torna intensa.

De acordo com estudos de SILVA (2002) a prevalência de *T. vivax* em bovinos no estado do Pará, determinada através da técnica de centrifugação de microhematócrito foi e 1,39%, com maior ocorrência nos municípios da região nordeste do estado com maior ocorrência em animais da raça nelore.

As técnicas parasitológicas são as mais comuns para o diagnóstico de *T. vivax* na América Latina assim como no Brasil. Entretanto em animais infectados, a parasitemia flutua bastante e baixos números de parasitos são encontrados no esfregaço sanguíneo durante a fase crônica da infecção e freqüentemente abaixo do limiar de detecção das técnicas usuais de diagnóstico parasitológico (MATTIOLI & FAYE, 1996). Uma vantagem do uso de ELISA indireto com antígeno bruto de *T. vivax* em estudos sorológicos na América Latina é a ausência de outra espécie de tripanossoma que induza a resposta imune, os quais, mostre reações cruzadas fortes com *T. vivax* como ocorre na África com *T. congolense* (REBSKI *et al.*, 2000b). Outro fator que favorece o ELISA indireto com antígeno bruto de *T. vivax* é que *T. theileri*, que ocorre na América do Sul, não mostra reação cruzada no ELISA com ELISA indireto com antígeno bruto de *T. vivax* (LUCKINS, 1977). Segundo MADRUGA ET AL., 2000A *et al.* (no prelo) o ELISA indireto com antígeno bruto de *T. vivax* apresentou um baixo percentual de reações cruzadas com *B. bigemina*, *B. bovis* e *A. marginale*,

hemoparasitos que ocorrem normalmente na região do Pará. Provavelmente essas reações foram restritas a fase aguda da infecção primária desses hemoparasitos, devido a resposta imune de alguns indivíduos induzirem a produção de anticorpos de baixa afinidade.

2.4. *Borrelia* sp

O gênero *Borrelia Swellengrebel, 1907*, foi assim denominado em homenagem ao pesquisador A. Borrel. Os microrganismos deste gênero possuem o formato helicoidal com 3 a 10 espiras e medem de 0,2 a 0,5 μm por 3 a 30 μm . Este organismo tem protoplasma cilíndrico envolto pela membrana celular, da qual partem flagelos, possui externamente outra membrana contendo diversas proteínas de superfície, e não possui túbulos citoplasmáticos (KRIEG & HOLT, 1984, BARBOUR & HAYES, 1986).

Como membro da ordem Spirochaetales, família Spirochaetaceae, estas bactérias distinguem-se morfológicamente dos demais gêneros, desta família, por serem maiores, possuírem maior número de flagelos periplasmáticos (15 a 20) e menor número de espiras (PFISTER *et al.*, 1994, QUINN *et al.*, 1994). *Borrelia* sp são espiroquetídeos simbióticos de carrapatos e piolhos, que podem ser transmitidos à aves e mamíferos, que são normalmente hospedeiros acidentais e atuam como reservatório amplificador. O gênero *Borrelia* é muito pleomórfico e pode ser observado em amostras de sangue e urina animal, hemolinfa e tecidos de carrapatos, cultura *in vitro* entre outros (BENNETT, 1995). Para observação em esfregaço sanguíneo são principalmente utilizados métodos de impregnação por prata, Giemsa e/ou Romanowsky. Em se tratando de amostras de sangue fresco e cultura, o microrganismo pode ser observado em microscopia de campo-escuro ou contraste de fase (QUINN *et al.*, 1994).

A multiplicação de *Borrelia theileri* ocorre predominantemente no carrapato e em menor intensidade no sangue bovino. A maior parte dos estudos sobre *B. theileri* em carrapatos, foram desenvolvidos em *B. microplus*. Somente a fase de ninfa transmite a espiroqueta para o bovino, apesar da transmissão transovariana ocorrer e os espiroquetídeos podem ser encontrados em larvas 72 horas após serem colocadas em bovinos. *B. theileri* também pode ser transmitida pela inoculação de sangue total fresco de bovinos infectados para não infectados (SMITH *et al.*, 1985).

Nos ruminantes, segundo WELLS *et al.* (1993), a Borreliose de Lyme promove aumento de volume articular, mialgia, febre, laminite, queda de produção e aborto. Na América do Norte a soroprevalência da Borreliose de Lyme em bovinos assintomáticos pode chegar a 75%, no Japão está em torno de 25%, na Austrália a prevalência não foi avaliada, pois em animais os casos são raros.

YOSHINARI *et al.* (1989), publicaram o primeiro artigo de revisão sobre Borreliose em língua portuguesa, quando alertaram a classe médica sobre a possibilidade da existência desta enfermidade no Brasil. O perfil da Borreliose de Lyme foi caracterizado no Brasil por YOSHINARI *et al.*, (1997), tendo sido relatado a ocorrência de aproximadamente 30 casos em humanos, quando foi discutido a clínica, o diagnóstico sorológico, tratamento e a epidemiologia com o envolvimento de cães, bovinos, animais silvestres e carrapatos.

A distribuição geográfica da borreliose bovina é determinada pela dispersão do seu vetor. *B. theileri* é a espécie predominante em bovinos, sendo que *B. burgdorferi* e *B. coriaceae* também foram relatadas causando doença clínica. Portanto, *B. theileri* causa doença leve em bovinos, e ainda é importante pelo seu potencial em ser confundido com o agente etiológico da Borreliose de Lyme, *B. burgdorferi*, e com agentes do Aborto Epizoótico bovino, *B. coriaceae*.

B. theileri, assume um papel importante porque pode ser transmitida entre bovinos e outros herbívoros sem induzir sinais clínicos de infecção mesmo em bovinos esplenectomizados (ISHIKAWA, 1996), sendo assim, o diagnóstico de borreliose pode ser complicado especialmente pelas reações cruzadas entre *B. burgdorferi* e *B. theileri* (ROGERS, *et al.*, 1999).

WELLS *et al.* (1993) constataram maior especificidade e sensibilidade do teste ELISA indireto em relação ao teste de Imunofluorescência indireta (IFI). Também observaram que a soropositividade a *B. burgdorferi* pelo teste ELISA, não teve associação com a soropositividade para 6 sorotipos de *Leptospira interrogans*. E constataram que altos títulos de anticorpos contra *B. burgdorferi* associados a sintomas de claudicação.

ROGERS *et al.* (1999) ressaltaram a importância de se tomar cuidado na distinção entre as várias espécies do gênero *Borrelia* que ocorrem em bovinos por causa das reações cruzadas relacionadas as provas sorológicas. Este relato foi obtido através de estudo onde bovinos infectados com *B. theileri* produziram anticorpos que reagiram cruzadamente com *B. burgdorferi* e *B. coriaceae* ao teste de imunofluorescência

indireta, usando antígenos de células inteiras dos três organismos. A reação cruzada é, segundo os autores, provavelmente ligada, em parte, a um antígeno flagelar de 41 KDa, comum às espécies, que foi detectado no teste de imunofluorescência indireta.

WELLS *et al.* (1993) relataram a maior sensibilidade e especificidade do ELISA indireto para *B. burgdorferi* comparado a Imunofluorescência indireta em seu estudo em gado de leite. Afirmando ainda que a concordância entre o ELISA e o Western blotting como o desejado para um teste diagnóstico. Entretanto, o último teste não deve ser padrão satisfatório por causa das suas limitações incluindo interpretação, confiabilidade e custo. Tendo ainda falhas no o diagnóstico de doença de Lyme humana e deve ser substituído por outros ensaios no futuro (BERARDI *et al.* 1988).

Estudos conduzidos por FONSECA *et al.* (1996), indicaram que de 513 amostras de soro bovino analisadas pelo teste ELISA indireto 372 (72,51%) apresentaram anticorpos IgG contra *B. burgdorferi* com título entre 1/400 e 1/1600, 141 (27,49%) foram negativos. A maior percentagem de animais soropositivos foi observado no grupo proveniente do município de Alegre, Estado do Espírito Santo. Neste município foi verificado um bezerro com claudicação e outro com aumento de volume da articulação rádio-carpiana ambos da mesma propriedade e com sorologia positiva no teste ELISA. Nesta região também foram identificados casos humanos com suspeita clínica e sorologia positiva (ELISA e “Western blotting”) reforçando a possibilidade de se tratar de uma área de risco para Borreliose de Lyme com chance de ser causada pelo mesmo agente da borreliose em animais.

Teste ELISA indireto realizado em 150 amostras de soros de cães aparentemente sadios indicaram que 30 (20%) reagiram positivamente, das quais 20 (13,34%) apresentaram títulos de 1:400, quatro (2,66%) a 1:800 e seis (4,00%) com título de 1:1600; totalizando 120 (80%) amostras negativas (SOARES, 1999).

Recentemente, *Borrelia* sp incultiváveis têm sido incriminadas como potenciais causadores da Borreliose de Lyme símile (SMITH & ROGERS, 1998). No Brasil, assim como em outros países Sul americanos, o agente desta enfermidade ainda não foi isolado prejudicando ainda mais o diagnóstico (CICERONI *et al.*, 1994, YOSHINARI *et al.* 2005). São necessários cuidados na interpretação de resultados sorológicos especialmente no caso de bovinos, que são animais acometidos por outras espécies como *B. theileri* e *B. coriacea* transmitidas por *Boophilus microplus* e *Ornithodoros spp*, respectivamente (BENXIU & COLLINS, 1994). O estudo de *Borrelia spp*

potencialmente zoonóticas incluindo *B. theileri*, é, portanto, relevante à saúde de ambos, animais e humanos.

2.5. Deficiência Mineral em Ruminantes

SPEARS, 2000, demonstrou que os micronutrientes afetam vários aspectos da imunidade em bovinos e as interações entre o estado nutricional, imunológico e de resistência a doenças é extremamente complexo. As deficiências minerais estão ligadas a áreas geográficas, podendo ocorrer em diversos graus, desde deficiências severas com perturbações mais ou menos características, até deficiências leves, com sintomas inespecíficos como desenvolvimento lento, problemas de fertilidade, baixo rendimento de carcaça e pouca produção de leite. Deficiências leves ou moderadas também podem causar prejuízos econômicos sérios porque reduzem a produtividade dos animais e constituem obstáculos a melhoria dos rebanhos. Estudos no estado do Pará relatam a deficiência de alguns minerais como o cobre (Cu) e cobalto (Co) (TOKARNIA et al., 2000).

A deficiência de cobre resulta em decréscimo na imunidade celular e humoral, bem como a diminuição da imunidade inespecífica regulada por células fagocíticas como macrófagos e neutrófilos (LUKASEWYCZ & PROHASKA, 1983). Foi observada correlação entre baixos níveis de IgM sérica com a deficiência de Cu em ratos (WINDHAUSER et al. 1991). A redução dos níveis de precursores de linfócitos B assim como dos linfócitos B maduros, foi relatado por STABEL et al. (1993), em camundongos deficientes de Cu, indicando alguma interferência na via de diferenciação dos linfócitos B, o que pode influenciar na maturação destas células a plasmócitos, com subsequente redução da produção de IgG. As concentrações de cobre nos órgãos envolvidos na imunorregulação como fígado, baço, timo e pulmões foram substancialmente reduzidos pela deficiência de Cu em estudos realizados por STABEL et al. (1993), sugerindo que animais deficientes tem maior risco de infecção que animais normais.

GENGELBACH & SPEARS (1998) relataram que bezerros alimentados com dieta deficiente em Cu suplementados com 5 mg de Molibdênio/Kg obtiveram uma resposta imune primária menor que animais em dieta normal. Este autor relatou ainda que, a resposta imune secundária também foi menor em bezerros alimentados com dieta

deficiente em Cu suplementado com Molibdênio, quanto à administração parenteral de eritrócitos suínos.

Os microorganismos do rumem necessitam do cobalto para a síntese de vitamina B12 que tem ação catalítica na atividade das enzimas metilmalonil CoA mutase e metionina sintetase presente em mamíferos (KENNEDY et al., 1992). Dietas deficientes em Co em ruminantes leva a deficiência de vitamina B12, que em ovinos é caracterizada por perda de peso ou desenvolvimento lento, lacrimejamento e fotossensibilização (ULVUND & PESTALOZZI, 1990). Também são observados, aumento na taxa de natimortos e mortalidade perinatal em ovinos supostamente devido a diminuição da imunoreatividade, aumento da susceptibilidade a infecções em caprinos, diminuição da atividade dos neutrófilos contra leveduras em caprinos e bovinos, sendo a diminuição da função imune também relatada em ratos deficientes, seres humanos e imunidade mediada por células T em ovinos. Além da diminuição do período pré-patente e aumento da contagem de ovos nas fezes em infecções naturais com nematódeos gastrintestinais (VELLEMA et al.1996).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Origem dos Animais

A pesquisa foi realizada utilizando-se soros de 246 animais da espécie bovina, fêmeas adultas, provenientes dos municípios de São Miguel do Guamá e Castanhal do estado do Pará, (Figura 1), que juntos possuem cerca de 96.000 cabeças de gado bovino, correspondendo a 0,71% da população efetiva de bovinos do estado (13.376.606 cabeças) (IBGE, 2003). A região estudada possui duas estações predominantes, uma de seca correspondendo aos meses de julho a novembro e outra das chuvas durante os meses de dezembro a junho (Gráfico 1).

3.2. Animais Estudados

Os animais foram selecionados por conveniência e facilidade de acesso às propriedades, totalizando 181 vacas mestiças com aptidão para produção de leite de uma propriedade, localizada no município de São Miguel do Guamá; 65 vacas nelore com aptidão para corte, procedentes de duas propriedades localizadas no município de Castanhal, ambos na região nordeste do estado do Pará e distantes de cerca de 30 km uma das outras.

As amostras foram colhidas através da venopunção jugular, assepticamente. Os soros obtidos foram devidamente identificados, aliquotados em tubos tipo eppendorf e armazenados à -20°C até o momento da análise sorológica.

O tamanho mínimo das amostras foi determinado através da fórmula do Centro Panamericano de Zoonoses (1979), para o estudo de enfermidades crônicas, em que:

$$N = \frac{p \cdot (100 - p) \cdot Z^2}{(d \cdot p / 100)^2}$$

Sendo: n = número de amostras; p = prevalência esperada; Z = grau de confiança e d = margem de erro.

Para o cálculo da amostragem mínima necessária para se estabelecer a prevalência do local estudado, foram feitos estudos pilotos para determinar a prevalência estimada da região. Para cada agente foi realizado uma placa do teste

ELISA indireto, com 35 amostras de soro, onde foram obtidas as seguintes prevalências: Para *B. bigemina* 77,2%, o qual, segundo a fórmula descrita acima, com uma margem de erro de 10% se obteve um número mínimo de 118 bovinos; Para *B. bovis*, foi estabelecida uma prevalência média de 91%, obtendo-se 158 animais, com uma margem de erro de 5%. Para *A. marginale*, foi encontrada a prevalência de 91% resultando em um número mínimo de 155 animais com uma margem de erro de 5%. O estudo de *T. vivax*, foi baseado em uma prevalência estimada de bovinos sorologicamente positivos para este hemoparasito de 82% determinada com margem de erro de 10%, sendo estabelecida uma amostragem mínima de 87 animais. Em relação a *B. burgdorferi*, a prevalência obtida foi de 70% correspondendo a uma amostra de 171 animais, com uma margem de erro de 5%. Para todos os cálculos foi usado o intervalo de confiança de 95%.

3.3. Antígenos de *Babesia bigemina*, *B. bovis* e *Trypanosoma vivax*

Os antígenos brutos de *B. bigemina*, *B. bovis* e *T. vivax* foram produzidos segundo metodologia descrita por MADRUGA *et al.* (2001, 2000b), e MADRUGA *et al.* (no prelo), respectivamente, sendo gentilmente cedidos bem como o soro controle positivo pelo Dr. Cláudio Roberto Madruga, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, EMBRAPA, Campo Grande, MS.

3.4. Obtenção do Antígeno Recombinante de *Anaplasma marginale*

O antígeno recombinante MSP1a de *A. marginale*, foi produzido segundo metodologia descrita por ARAÚJO *et al.* (2005b), e cedido para o desenvolvimento do estudo, assim como os controles negativos (proveniente de animais de isolamento, sem contato com carrapatos e dípteros hematófagos) e positivos, pelo Dr. Flávio Ribeiro de Araújo, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, EMBRAPA, Campo Grande, MS.

3.5. Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA) Indireto para Anticorpos Contra *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale* e *Trypanosoma vivax*

No ensaio ELISA indireto para detecção de anticorpos contra *A. marginale*, utilizou-se a proteína MSP1a recombinante. Brevemente, o fragmento do gene *m脾1a* que codifica para a região carboxi (C)-terminal da proteína foi amplificado por PCR, clonado em vetor *pTrcHis-TOPO* (Invitrogen) e expresso em *E. coli* TOP10. A purificação da proteína foi feita por cromatografia de afinidade em resina de agarose-níquel (ProBond kit, Invitrogen).

Para padronização dos ensaios ELISA indireto, diluições ótimas dos antígenos, soros e conjugado foram determinadas pela avaliação de duas amostras de soros de bovinos negativos e duas positivas para anticorpos contra *B. bigemina*, *B. bovis* ou *A. marginale* pela Imunofluorescência Indireta. O procedimento a seguir foi selecionado por apresentar as maiores diferenças nas densidades óticas (DOs) entre os soros positivos e negativos.

Placas de 96 poços (Costar, 3590) foram adsorvidas com 60 η g/mL de MSP1a recombinante, 60mg de antígeno bruto de *B. bigemina* ou 60 de antígeno bruto de *B. bovis*, diluídos em salina fosfatada de Dulbecco (DPBS), pH 7,2, por 12 horas, a 4°C. As placas foram bloqueadas com 100 μ L/poço de soro equino livre de γ -globulinas (Sigma) a 5%, diluído em PBST, pH 7,2, por 60 minutos, a 37°C. Após cinco lavagens com salina fosfatada tamponada (PBS) com 0,1% de Tween-20 (PBST), 100 μ L/poço dos soros controle e teste, diluídos em PBST a 1:1000 para MSP1a, 1:500 para *B. bovis* e *B. bigemina*, foram incubados por 60 minutos a 37°C. As placas foram então lavadas cinco vezes com PBST, e 100 μ L/poço do conjugado anti-IgG de bovino/peroxidase (ref. A-7414, Sigma), diluído em PBST a 1:10.000, foram então adicionados aos poços. As placas foram incubadas por 30 minutos a 37°C e, após cinco lavagens com PBST, 50 μ L/poço do cromógeno/substrato o-fenildiamino (P-1526, Sigma/ H₂O₂) na concentração de 0,6 mg/mL foi adicionado. A reação foi parada após cerca de cinco minutos, pela adição de H₂SO₄ (2,5 N) e os resultados, obtidos em leitor EL-800 (Bio-Tek), com filtro de 490 η m.

3.6. Obtenção do Antígeno de *Borrelia burgdorferi*

Foi utilizada como referência *Borrelia burgdorferi* stricto sensu cepa G39/40 de origem americana, mantida no Laboratório de Integração Artrite e Microrganismo, Departamento de Reumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Centro de Referência para Borreliose de Lyme no Brasil e gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Natalino Hajime Yoshinari.

A partir de cultura jovem de *B. burgdorferi* (repicada a aproximadamente quatro dias), uma alíquota de 1 ml foi retirada, adicionada a 500 mL de BSK-H completo (Sigma-Aldrich). A cultura foi mantida em estufa a 33° C por aproximadamente sete dias. A cultura então foi centrifugada a 12.000 x g por 20 minutos a 4° C, e o sedimento foi homogeneizado em PBS 0,001M Mg Cl₂ 6H₂O, pH 7,4 repetindo-se o processo por mais duas vezes, o sedimento obtido foi então, homogeneizado na mesma solução até se completar o volume final de 6 mL.

A suspensão foi submetida ao congelamento em nitrogênio e descongelamento em banho-maria a 37° C sonicação por 3 minutos (Fisher sonic dismembrator, model 300 – Dynatech) com intervalos de 15 segundos, filtrada em membrana 0,45µm, alíquotada e estocada até o momento do uso (GRODIZICKI & STEERE, 1998).

A concentração proteica do antígeno foi determinada pelo método de Folin (LOWRY *et al.*, 1951).

3.7. Obtenção do Controle Positivo para *Borrelia burgdorferi*

O soro controle positivo foi obtido a partir da inoculação experimental de uma bezerra fêmea de 50 dias de idade, sadia, pesando 36 kg de peso vivo, originário do setor de reprodução animal, Instituto de Zootecnia, da UFRRJ.

Foram realizadas três inoculações, com intervalos de 15 dias, de antígeno inativado de *B. burgdorferi* cepa 39/40 por via subcutânea, com agulhas e seringas estéreis, na dose de 1 mg/12 kg peso vivo sem a adição de adjuvante. Foram realizadas semanalmente, coletas de sangue para obtenção de soro totalizando 15 amostras que foram armazenados a -20°C até o momento da análise. A escolha do soro positivo mais adequado ao ensaio foi feita através do teste ELISA indireto, onde se pesquisou a presença de anticorpos homólogos da classe IgG anti-*B. burgdorferi*. Os soros que

apresentaram densidade óptica satisfatória com no mínimo três vezes o valor da linha de corte, foi o escolhido para ser usado como o controle positivo dos testes. Os soros utilizados como controles negativo foram os mesmos usados para os outros agentes, gentilmente cedidos pelo Dr. Flávio Ribeiro de Araújo, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, EMBRAPA, Campo Grande, MS.

3.8. Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) Indireto para Anticorpos Homólogos a *Borrelia burgdorferi*

As amostras de soros coletadas foram analisadas através do ensaio ELISA indireto padronizado por ISHIKAWA (1996). Para a sensibilização da placa Costar (3590), o antígeno foi diluído em tampão Coating buffer pH=9,6, na concentração de 15 µg/mL, sendo mantida em câmara úmida à 4°C por 12 horas. A placa foi bloqueada com gelatina a 1% em PBST, pH 7,4 e incubada por uma hora em temperatura ambiente. Os soros testes, controles negativos e positivo foram diluídos à 1:400 em PBST, e incubados por uma hora em temperatura ambiente. Foi utilizado o conjugado anti-IgG bovino ligado a fosfatase alcalina (Sigma Chemical) diluído 1:1000 em PBS tween 20 0,05%, sendo incubado por uma hora em temperatura ambiente, após o qual, foi adicionado à placa o substrato para-nitro-fenil-fosfato de sódio (PNPP – Sigma Chemical) diluído em tampão glicina pH 10,5 na concentração de 1mg/mL. Em todas as fases do ensaio foram utilizados 200µL de solução por poço e antes de cada etapa a placa foi lavada três vezes com PBST. Estas permaneceram em temperatura ambiente até a revelação e momento de leitura em espectrofotômetro para microplacas de 96 orifícios (Microplate Reader model 550, Bio-Rad Laboratories), utilizando filtro para comprimento de onda de 405nm.

3.9. Organização dos Soros Teste na Placa para Execução do Ensaio ELISA Indireto

Os soros para execução dos ensaios foram dispostos na placa da seguinte maneira:

Linhas A e B ⇒ Foram distribuídos seis diferentes soros controle negativo (C-) em cada linha, em duplicata.

Linha C ⇒ Na coluna um e dois foi distribuído uma amostra de soro controle positivo (C+) em duplicata.

A partir da linha C coluna três, foram distribuídos os soros testes, sempre em duplicata. Sendo assim, em cada placa foi possível realizar 35 amostras diferentes (Figura 1).

FIGURA 1. Ilustração da organização e disposição dos soros controle negativo, positivo e testes nas placas:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C 1 -	C 1 -	C 2 -	C 2 -	C 3 -	C 3 -	C 4 -	C 4 -	C 5 -	C 5 -	C 6 -	C 6 -
B	C 7 -	C 7 -	C 8 -	C 8 -	C 9 -	C 9 -	C 10 -	C 10 -	C 11 -	C 11 -	C 12 -	C 12 -
C	C a +	C a +	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5
D	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11
E	12	12	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17
F	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23
G	24	24	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29
H	30	30	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35

3.10. Determinação da Linha de Corte (cut-off) dos ELISAs para Anticorpos Contra *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi*.

Os pontos de corte (cutoff) para os ensaios foram determinados segundo metodologia descrita por FREY et al. (1998), utilizando a distribuição t-Student, sendo a fórmula matemática expressa como o desvio-padrão multiplicado por um fator que é baseado no número de controles negativos e no intervalo de confiança:

$$\text{Cutoff} = \bar{X} + \text{SD} \sqrt{1 + (1/n)}$$

Em que:

\bar{X} : Média das leituras dos soros controles negativos

SD : Desvio-padrão

t : valor para a distribuição t, baseado em n e no percentual de nível de confiança desejado.

n : número de controles negativos,

Para cada placa, o ponto de corte foi calculado com 12 soros controle negativos, sendo o nível de confiança de 99,0% e valor de t igual a 2,829, segundo tabela com valores para t-distribuição para cálculo de ponto de corte (FREY *et al.*, 1998).

Para corrigir o efeito da variação de DOs entre ensaios, os resultados foram expressos como o índice da DO de cada soro teste sobre a linha de corte (cutoff) da respectiva placa (DO soro teste x 100/"cut-off"), segundo ARAÚJO *et al.* (2005b).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo Sorológico de Bovinos do Nordeste do Pará

Os resultados das análises sorológicas foram demonstrados em densidade ótica (DO), e para o estabelecimento de uma padronização, os dados foram convertidos em relação ao “cut off” estabelecido para cada placa ($DO \times 100 / \text{“cut off”}$). As leituras das DOs estão dispostas nos anexos bem como o cálculo do percentual em relação ao “cut off” das placas para cada agente (Anexos 1 a 5). Para facilitar a comparação, os resultados foram agrupados em relação a cada agente (anexos 6 e 7). A distribuição espacial das DOs dos diferentes agentes estudados nos dois municípios estão representados nas Figuras 2 a 4.

4.1.1. Estudo da prevalência de *Babesia bigemina*

A análise sorológica de bovinos dos dois municípios da região nordeste do estado do Pará revelou a prevalência de anticorpos da classe IgG para *B. bigemina* de 98,4% (64 de 65 soros) para o município de Castanhal, e 99,4% (180 de 181 soros) para o município de São Miguel do Guamá (ANEXO 8). Estes resultados corroboram a faixa de prevalência encontrado por MADRUGA *et al.* (2001), variando de 87,7 a 98,9% na região do Pantanal no Mato Grosso do Sul. Os resultados também concordam com ARAÚJO *et al.* (1997), que obteve a prevalência de 95% em outra área enzooticamente estável, na Bahia. Assim como os resultados de SOUZA *et al.* (2000a), relatando a prevalência de 84,75% em bovinos da região do médio Paraíba no estado do Rio de Janeiro. Os resultados discordaram de SOUZA *et al.* (2000b), que estudou a mesorregião Norte Fluminense, no Rio de Janeiro, e BARROS *et al.* (2005) na região do semi-árido do estado da Bahia apresentando prevalência de 69,74% e 75,5% respectivamente, diferindo também de CARRIQUE MAS *et al.* (2000) que encontraram a prevalência de 64,2% na região do Chaco boliviano, através do ELISA indireto usando antígeno bruto.

A metodologia do ensaio Elisa indireto para *B. bigemina* utilizado neste trabalho foi desenvolvido por MADRUGA *et al.* (2001), onde foram comprovadas a alta especificidade e sensibilidade do teste utilizando antígeno bruto obtido de isolado brasileiro, não apresentando reação cruzada com anticorpos para *B. bovis*.

Não houve diferença significativa nas prevalências entre os Municípios estudados, segundo o teste Qui-quadrado (ANEXO 8). A diferença racial dos rebanhos e possível maior ou menor resistência a carrapatos, distribuição do protozoário nos vetores e a taxa de inoculação do patógeno não interferiram no desenvolvimento de resposta imune ao parasito. Portanto, ambos os municípios apresentaram elevada soroprevalência indicando a presença do agente nos vetores e repetidas reinfecções dos animais acarretando em imunidade.

4.1.2. Estudo da prevalência de *Babesia bovis*

Na pesquisa de anticorpos para *B. bovis* foi obtida a prevalência de 95,4% (62 de 65 soros) em relação aos soros avaliados no município de Castanhal, e 100% (181 soros) para o município de São Miguel do Guamá (SMG), estado do Pará (TABELA 2). Estes resultados de prevalência concordam com os apresentados por SOUZA *et al.* (2000c), com 91% de prevalência em bovinos da mesorregião do médio Paraíba no estado do Rio de Janeiro; SOARES *et al.* (2000) que obteve 90% de prevalência em animais da mesorregião Norte Fluminense do Rio de Janeiro; MADRUGA *et al.* (2000) com 83,9% em bovinos da região do Pantanal do Mato Grosso do Sul e BARROS *et al.* (2005), que encontrou 77,7% de prevalência em animais da região do Semi-árido do estado da Bahia; SOLORIO-RIVERA *et al.* (1999), que trabalhou com bovinos do leste de Yucatan, no México, encontrando a prevalência de 73,8% através do ensaio ELISA indireto. Os resultados diferiram de CARRIQUE MAS *et al.* (2000) que encontraram a prevalência de 64,2% na região do Chaco boliviano, através do ELISA indireto usando antígeno bruto.

MADRUGA *et al.* (2000) procederam a validação do ELISA indireto para *Babesia bovis* com antígeno bruto obtendo, sensibilidade e especificidade de 98% não apresentando reação cruzada com anticorpos para *B. bigemina*. O antígeno utilizado nos testes para detecção de *B. bovis* foi proveniente do laboratório do referido autor, podendo então ser extrapolados os seus relatos quanto a reações cruzadas do teste.

Comparando-se as prevalências de *B. bovis* observadas nos municípios estudados, foi encontrada diferença significativa segundo o teste de Qui-quadrado (ANEXO 8). Esta diferença pode estar relacionada a diferentes fatores. A predominância de animais de raça nelore (*Bos indicus*), com aptidão para corte, nas fazendas estudadas no município de Castanhal, o que implica em uma maior resistência a carrapatos, com menores taxas de infestação dos animais, possibilitando menores taxas de inoculação do patógeno e decorrente menor prevalência. Já no município de SMG, os animais têm aptidão para produção leiteira, sendo predominante os mestiços de raças européias, mas com algum grau de sangue zebu (*Bos indicus*), conferindo uma menor resistência a carrapatos em relação ao gado nelore. Isto possibilita uma maior infestação de carrapatos, aumentando o contato dos animais com o protozoário, possibilitando maior soroprevalência. Como os municípios são próximos, é possível excluir a interferência das condições climáticas interferindo na dinâmica populacional do *B. microplus*, visto que os dados de temperatura, umidade e pluviosidade, abrangem as regiões do estudo, possibilitando as mesmas condições de desenvolvimento dos vetores (Figura 2). No entanto, o risco de ocorrência de surtos de babesiose nos municípios é pequeno, pela alta prevalência das áreas, que em ambos os casos foram acima de 75%, indicando que os animais adquiriram infecção antes de um ano de idade, com constante reinfecções garantindo imunidade (MAHONEY & ROSS, 1972). Esta realidade não se aplica quanto à introdução de animais provenientes de áreas de instabilidade ou livres da doença, como é o caso da Ilha do Marajó. A introdução destes animais livres nestes municípios ocasiona, potencialmente, doença clínica grave, com sinais clínicos evidentes (BARBOSA, comunicação pessoal).

TABELA 1. Prevalência das densidades óticas encontradas através do ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina* de bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

Local	D.O. x 100/"Cut- off"(%) #	Frequência positivos		Negativos		Total
		(n +)	absoluta%	Relativa%	(n -)	
Castanhal	100 a 200	21	98,4	26,0	1	65
	201 a 300	24				
	301 a 400	18				
	> 401	1				
	Total	64				
S.M.Guamá	100 a 200	95	99,4	73,2	1	181
	201 a 300	22				
	301 a 400	28				
	> 401	35				
	Total	180				
Total		244			2	246
Totais soros		99,2%			0,8%	100%

= Média das densidades óticas das amostras dividido pelo valor do "cut off" de cada placa vezes 100.

(N +) = O número de soros positivos que estão contidos no intervalo descrito.

(N -) = Número de negativos. Levando-se em consideração que o valor do cut off de cada placa é considerado 100%. O número de soros com a razão(DO vezes 100/"Cut-off") menor que o cut off da placa em que está incluído, são considerados negativos.

Frequência absoluta = Frequência dentro de cada propriedade

Frequência relativa = Frequência relativa ao número total de amostras.

TABELA 2. Frequência das densidades óticas encontradas através do ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bovis* de bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

Local	Frequência positivos			Negativos		Total					
	D.O. x 100/"Cut- off" (%) #	(n +)	absoluta%	Relativa%	(n -)						
Castanhal	100 a 150	29	95,4	25,2	3	65					
	151 a 200	25									
	201 a 250	8									
	> 251	0									
	Total	62									
	S.M.Guamá	100 a 150					13	100,0	73,6	0	181
		151 a 200					57				
201 a 250		84									
> 251		27									
Total		181									
Total		243			3	246					
Totais soros		98,8%			1,2%	100%					

= Média das densidades óticas das amostras dividido pelo valor do "cut off" de cada placa vezes 100.

(N +) = O número de soros positivos que estão contidos no intervalo descrito.

(N -) = Número de negativos. Levando-se em consideração que o valor do cut off de cada placa é considerado 100%. O número de soros com a razão(DO vezes 100/"Cut-off") menor que o cut off da placa em que está incluído, são considerados negativos.

Frequência absoluta = Frequência dentro de cada propriedade

Frequência relativa = Frequência relativa ao número total de amostras.

4.1.3. Estudo da prevalência de *Anaplasma marginale*

Em relação aos anticorpos da classe IgG para proteína recombinante MSP1a (*A. marginale*), a prevalência foi de 66,15% (43 de 65 soros) no Município de Castanhal, e 69,1% (125 de 181 soros) no Município de São Miguel do Guamá, estado do Pará (TABELA 3). Não houve diferença significativa nas prevalências entre os Municípios estudados, ou seja, os dois Municípios possuem a mesma proporção de positivos, segundo o teste de Qui-quadrado (ANEXO 8).

Os resultados discordam daqueles publicados por BARROS *et al.* (2005) que encontraram na região do semi-árido da Bahia 98,9 e 97% utilizando o teste ELISA com antígeno bruto de *A. marginale* e a proteína recombinante MSP5 respectivamente; SOUZA *et al.* (2000d), que encontraram na mesorregião Norte Fluminense do Rio de Janeiro a prevalência de 91% utilizando antígeno bruto; Concordando com os resultados de RODRIGUES-VIVAS *et al.* (2004) analisando bovinos da região dos trópicos Mexicanos encontraram a prevalência de 69,75% utilizando o teste de “card agglutination”; CARRIQUE MAS *et al.* (2000a) estudaram o Chaco boliviano, encontrando a prevalência de 38,8% através do ELISA indireto usando antígeno bruto.

Temperatura e umidade são conhecidas como sendo fatores cruciais para o desenvolvimento de *B. microplus*. Entretanto, BARROS *et al.* (2005), sugerem que a transmissão de *A. marginale*, não é dependente somente da população do vetor ixodídeo, pelo fato de na região de Uauá e Juazeiro, estado da Bahia, ter sido observada situação de instabilidade enzoótica para *B. bigemina* e *B. bovis*, sendo as regiões caracterizadas, no entanto, como de estabilidade enzoótica para *A. marginale*. Este conceito pode ser reforçado pelo relato de surtos de anaplasmose em regiões onde *B. microplus* foi erradicado (GUGLIELMONE, 1995), levando a crer que outros fatores são de grande importância para a epidemiologia da anaplasmose bovina. Os tabanídeos tem sido incriminados como transmissores da anaplasmose aos bovinos, pela alta prevalência desta riquetsia, em regiões onde o ambiente é menos favorável a manutenção de *B. microplus*, como em regiões da Bolívia (CARRIQUE MAS *et al.*, 2000a).

Apesar dos carrapatos serem os vetores comuns da anaplasmose, o risco de infecção do gado por este agente é consideravelmente mais complexo, pelo fato dos vetores mecânicos (*Stomoxys sp.*, Tabanídeos) poderem intervir ativamente quando em abundância no ambiente. O verdadeiro papel dos carrapatos, não pode ser separado do

papel dos dípteros. A relação *Anaplasma* x carrapato, conta somente para a transmissão, a rickettsia não realiza ciclo o carrapato, somente se multiplica nos intestinos, não sendo relacionada à espécie do vetor (*Boophilus*, *Amblyomma* ou dípteros hematófagos). Considerações a respeito do risco de infecção de babesiose, theileriose e outras doenças ou desordens fisiológicas intercorrentes, fornecem condições favoráveis para anaplasmoses (Manual of Tropical Veterinary Parasitology, 1981).

Na estação das chuvas, a temperatura média da região situa-se em torno de 23 e 33 °C e a umidade entre 85 e 90% com pouca variação ao longo da estação (Gráfico 1), isto implica em que os municípios estudados enfrentem grande problema relacionado ao aumento da população de carrapatos e dípteros hematófagos nesta época do ano. Este dado associado ao controle ineficaz do parasitismo por parte dos proprietários das fazendas, faz com que os animais sejam expostos a uma ampla variedade de agentes patogênicos que poderão causar doença clínica dependendo do estado imunológico dos bovinos.

TABELA 3. Frequência das densidades óticas encontradas através do ELISA indireto dos soros teste para *Anaplasma marginale* de bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

Local	Frequência positivos			Negativos		Total					
	D.O. x 100/"Cut- off" (%) #	(n +)	absoluta%	Relativa%	(n -)						
Castanhal	100 a 125	29	66,15	17,5	22	65					
	126 a 150	10									
	151 a 200	4									
	> 201	0									
	Total	43									
	S.M.Guamá	100 a 125					70	69,1	50,8	56	181
		126 a 150					34				
151 a 200		18									
> 201		3									
Total		125									
Total		168	78	246							
Totais soros		68,3%	31,7%	100%							

= Média das densidades óticas das amostras dividido pelo valor do "cut off" de cada placa vezes 100.

(N +) = O número de soros positivos que estão contidos no intervalo descrito.

(N -) = Número de negativos. Levando-se em consideração que o valor do cut off de cada placa é considerado 100%. O número de soros com a razão(DO vezes 100/"Cut-off") menor que o cut off da placa em que está incluído, são considerados negativos.

Frequência absoluta = Frequência dentro de cada propriedade

Frequência relativa = Frequência relativa ao número total de amostras.

4.1.4. Estudo da prevalência de *Trypanosoma vivax*

A prevalência nos bovinos estudados de anticorpos para *Trypanosoma vivax* foi de 83% (54 de 65 soros) no Município de Castanhal, e 96,7% (175 de 181 soros) no Município de São Miguel do Guamá (TABELA 4). Dados que discordam daqueles publicados por MAGONA *et al.* (2005) que estudaram a região sudoeste de Uganda, encontrando prevalência de 15,5% de tripanosomose em bovinos de região onde havia a presença do vetor *Glossina pallidipes*, através das técnicas de centrifugação de hematócrito e capa leucocitária; VAN DEN BOSSCHE *et al.* (2000) relataram a prevalência de anticorpos para *Trypanosoma sp* em 14,2% dos bovinos da região de Malawi, na África, utilizando o teste ELISA indireto. MADRUGA *et al.* (no prelo) relataram a prevalência de 30% em bovinos de cinco regiões do estado do Pará. Em estudos no Pantanal, o período em que há maior risco de transmissão da tripanossomose para os bovinos é a estação chuvosa, devido ao pico populacional dos tabanídeos principalmente *Tabanus importunus* (SILVA *et al.* 1996).

DESQUESNES & DIA (2003, 2004), demonstraram a transmissão mecânica de *T. vivax* na África, pelas amplamente distribuídas espécies de tabanídeos *Atylotus fuscipes* e *Atylotus agrestis*. Segundo KOLLER *et al.* (2002), a probabilidade de transmissão de agentes patogênicos é influenciada pela abundância dos vetores, e os picos populacionais observados durante o período chuvoso, indicando que esta época seja a mais importante em termos de riscos de transmissão mecânica por tabanídeos na região do Pantanal do Mato Grosso do Sul, sendo agravada ainda mais pela maior diversidade de espécies neste período e maior abundância de espécies com elevado potencial vetorial. Esta realidade se aplica às áreas onde há ocorrência de dípteros hematófagos. Em alguma estação do ano, em que há condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento desses potenciais vetores, ocorrendo um aumento populacional, possibilitando um maior contato dos vetores com os bovinos, aumentando a probabilidade de transmissão de patógenos mecanicamente. Na América Latina, onde a transmissão é estritamente mecânica, a tripanossomose bovina, aparece como doença enzoótica subclínica com surtos periódicos de da doença ocorrendo com 3 a 5 anos de silêncio epidemiológico (DESQUESNES & DIA, 2004).

DELAFOSSÉ *et al.* (2005) relatou que o risco de soropositividade aumenta com a idade dos animais devido ao fato de terem maior exposição ao agente e também pode estar ligada à persistência de anticorpos e não a um fator específico da idade. O risco de

doença aguda parece ser independente da idade pelo fato de vários autores enfatizarem a baixa susceptibilidade de bezerros a infecção por *T. vivax* durante o primeiro ano de vida. O risco de soropositividade aumenta com o nível de sangue de *Bos taurus* do rebanho, pelo fato de não terem anticorpos contra os agentes transmitidos por carrapatos, possibilitando o aparecimento de doença clínica. Isto não acontece com *Bos indicus* que possui um maior grau de resistência, pelo maior contato com os agentes e conseqüente imunidade adquirida e há autores que usam o termo tripanotolerância.

As prevalências encontradas nos municípios estudados apresentaram diferença significativa, segundo o teste de Qui-quadrado (ANEXO 8). Explorando as possibilidades que possam interferir na diferença encontrada entre as prevalências, é possível citar a maior adaptação da raça nelore, *Bos indicus*, frente aos desafios do clima tropical possibilitando uma maior resistência aos agentes e aos seus vetores. O que é justificado com a menor prevalência de soropositivos nos animais do município de Castanhal. O município de São Miguel do Guamá possui animais mestiços de sangue europeu, *Bos taurus*, que são animais mais sensíveis que os da raça nelore, aos desafios que o clima tropical oferece pela abundância de agentes patogênicos e seus vetores. Fazendo com que os animais mestiços sejam mais intensamente parasitados pelos dípteros hematófagos, e tenham mais contato com o agente *T. vivax*, desenvolvendo maior resposta imune, acarretando maior prevalência. Porém, os dois municípios apresentaram altas prevalências indicando a presença do agente estimulando a produção de anticorpos.

TABELA 4. Frequência das densidades óticas encontradas através do ELISA indireto dos soros teste para *Trypanosoma vivax* de bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

Local	Frequência positivos			Negativos		Total
	D.O. x 100/"Cut- off" (%) #	(n +)	absoluta%	Relativa%	(n -)	
Castanhal	100 a 125	51	83	21,9	11	65
	126 a 150	3				
	151 a 200	0				
	> 201	0				
	Total	54				
S.M.Guamá	100 a 125	25	96,7	71,1	6	181
	126 a 150	64				
	151 a 200	77				
	> 201	9				
	Total	175				
Total		229			17	246
Totais soros		93,1%			6,9%	100%

= Média das densidades óticas das amostras dividido pelo valor do "cut off" de cada placa vezes 100.

(N +) = O número de soros positivos que estão contidos no intervalo descrito.

(N -) = Número de negativos. Levando-se em consideração que o valor do cut off de cada placa é considerado 100%. O número de soros com a razão(DO vezes 100/"Cut-off") menor que o cut off da placa em que está incluído, são considerados negativos.

Frequência absoluta = Frequência dentro de cada propriedade

Frequência relativa = Frequência relativa ao número total de amostras.

4.1.5. Estudo da prevalência de *Borrelia* sp

Para anticorpos da classe IgG homólogos a *B. burgdorferi* a prevalência foi de 36,9% (24 de 65 soros) para o município de Castanhal, e 61,3% (111 de 181 soros) para o município de São Miguel do Guamá. Foi observada diferença significativa nas prevalências entre os municípios estudados, segundo o teste Qui-quadrado (ANEXO 8), ou seja, foi encontrada associação entre as prevalências dos municípios. O município de São Miguel do Guamá possui maior proporção do agente infeccioso que Castanhal. Como já discutido anteriormente para outros agentes, a prevalência foi significativamente maior no município que os animais têm grau de sangue *Bos taurus*, sendo menor sua resistência tanto para carrapatos quanto para os agentes por eles transmitidos, promovendo maior resposta imune.

Os carrapatos do gênero *Ixodes scapularis* são considerados os vetores primários de *B. burgdorferi*, que por sua vez tem uma ampla gama de hospedeiros, sendo razoável a hipótese de que o gado leiteiro se infecta com *B. burgdorferi* em áreas onde o carrapato é disseminado, desenvolvendo resposta imune (BENXIU JI, *et al.* 1994). No Brasil, não há ocorrência de *I. scapularis*, por sua vez, ocorrem a espécie *B. microplus* e o gênero *Ornithodoros* sp que são hospedeiros de *B. theileri* e *B. coriaceae* respectivamente.

BENXIU JI *et al.* (1994), relataram a correlação de soropositividade de gado leiteiro e infecções em humanos por *B. burgdorferi* em áreas de distribuição geográfica de *I. scapularis*, no estado de Wisconsin, Estados Unidos. Entretanto FRENCH *et al.* (1992) detectaram animais soropositivos em áreas desta mesma região, em que não havia ocorrência de *I. scapularis*. O gado pode servir com sentinela da exposição a *B. burgdorferi*. Outras razões para a detecção de infecção por *B. burgdorferi* em áreas livres do vetor seria a rapidez com o qual seres humanos e bovinos se deslocam ou que *B. burgdorferi* seja transmitida por outros vetores hematófagos como moscas, mosquitos e pulgas (BENXIU JI, *et al.* 1994).

Apesar de *B. theileri* causar doença branda em bovinos, sua importância se dá pelo potencial para ser confundida com *B. coriaceae* e *B. burgdorferi*. Assim relatam os estudos de ROGERS *et al.* (1999), indicando que a distinção sorológica entre as espécies de *Borrelia* sp citadas é possível, entretanto, a maior parte dos estudos sorológicos atuais utilizam antígeno bruto, havendo, portanto alto potencial para reações cruzadas, particularmente em áreas onde os agentes coincidem.

TABELA 5. Frequência das densidades óticas encontradas através do ELISA indireto dos soros teste para *Borrelia burgdorferi* de bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

Local	Frequência positivos			Negativos		Total
	D.O. x 100/"Cut- off" (%) #	(n +)	absoluta%	Relativa%	(n -)	
Castanhal	100 a 125	20				
	126 a 150	4				
	151 a 200	0	36,9	9,7	41	65
	> 201	0				
	Total	24				
S.M.Guamá	100 a 125	59				
	126 a 150	24				
	151 a 200	21	61,3	45,1	70	181
	> 201	7				
	Total	111				
Total		135			111	246
Totais soros		54,9%			45,1%	100%

= Média das densidades óticas das amostras dividido pelo valor do "cut off" de cada placa vezes 100.

(N +) = O número de soros positivos que estão contidos no intervalo descrito.

(N -) = Número de negativos. Levando-se em consideração que o valor do cut off de cada placa é considerado 100%. O número de soros com a razão(DO vezes 100/"Cut-off") menor que o cut off da placa em que está incluído, são considerados negativos.

Frequência absoluta = Frequência dentro de cada propriedade

Frequência relativa = Frequência relativa ao número total de amostras.

4.2. Estudo da Prevalência de *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia* sp

Em relação ao total de 246 soros avaliados na região nordeste do estado do Pará, as prevalências foram as seguintes: 99,2% (244 soros) para *B. bigemina*; 98,8% (243 soros) para *B. bovis*; 68,3% (168 soros) para *A. marginale*; 93,1% (229 soros) para *T. vivax*; 54,9% (135 soros) para anticorpos homólogos a *B. burgdorferi* (TABELA 6).

A região estudada foi caracterizada como enzooticamente estável para *B. bigemina* e *B. bovis* assim, segundo a classificação de MAHONEY (1974), por conter mais de 75% de animais apresentando sorologia positiva. O risco de ocorrência de surtos economicamente importantes de *B. bigemina* e *B. bovis* nos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá, é pequeno, levando-se em consideração as condições atuais do rebanho. Entretanto, mudanças em fatores como manejo, raça, controle carrapaticida e estado nutricional, podem, com o tempo, alterar o padrão sorológico e susceptibilidade a doença, passando áreas de estabilidade para instabilidade enzoótica, com alto risco de surtos acarretando prejuízo econômico (GUGLIELMONE, 1995).

O alto número de reações sorológicas positivas a *B. bigemina* e *B. bovis*, pode ser usada como indicador da existência de imunidade contra esses parasitos. A ausência de um método de controle de carrapatos periódico e eficiente foi provavelmente o principal fator para a manutenção da estabilidade endêmica da região estudada. Mesmo quando a taxa de inoculação está na faixa de estabilidade endêmica, uma pequena proporção dos animais pode permanecer susceptível a babesiose e casos esporádicos podem ocorrer devido aos animais que não foram imunizados antes dos nove meses de idade sendo infectados quando mais velhos (REGASSA *et al.* 2003).

Alguns aspectos epidemiológicos da anaplasmose são similares àqueles que ocorrem com a babesiose. A infecção primária em bezerros é menos provável que resulte em doença clínica e imunidade persistente normalmente se desenvolve. Por isso, o conceito de estabilidade/instabilidade enzoótica como é usado para babesiose, também se aplica a anaplasmose (GUGLIEMONE, 1995). Levando-se em consideração este fato, a tripanossomose e a borreliose também segue os padrões de infecção das babesioses, causando doença clínica em animais intensamente debilitados, ou aqueles os quais nunca tiveram contato com o agente, levando a produção de imunidade. Além disso, a tripanossomose bovina na América Latina pode partilhar dos mesmos vetores

mecânicos que a anaplasnose (dípteros hematófagos), assim como a borreliose bovina, babesioses e anaplasnose têm vetores comuns, que corresponde ao carrapato *B. microplus*. Sendo assim, é possível sugerir a extrapolação da classificação de MAHONEY (1974), caracterizando a região estudada como enzooticamente estável para *Trypanosoma vivax*, e enzooticamente instável para *Anaplasma marginale* e *Borrelia* spp.

Há risco de ocorrência de surtos de anaplasnose e *Borrelia* spp. nos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá. Isto se deve ao fato de menos de 75% dos animais estudados apresentarem imunidade contra os agentes em questão. Portanto, à medida que a população de animais tem contato com os patógenos, dependendo de alguns fatores básicos já citados como raça, idade, população de carrapatos e infestação dos mesmos com os patógenos, estado fisiológico e imunológico dos animais, podem ocorrer surtos de doença clínica, levando a queda de produção e até morte em decorrência da anaplasnose.

A discordância dos resultados apresentados para a prevalência de *A. marginale*, em relação a estudos de MADRUGA *et al.* (2000a) e SOUZA, *et al.* (2000d), pode dever-se ao fato de ter sido utilizado o antígeno recombinante MSP1a, que oferece maior especificidade e sensibilidade em relação ao antígeno bruto. E, também, elimina a possibilidade de reações inespecíficas por parte de antígenos eritrocitários, presentes nas preparações com antígeno bruto.

Outros fatores que justificam a menor prevalência de *A. marginale* em relação a outros estudos pode ser a possibilidade da população de carrapatos e dípteros hematófagos serem insuficientes a ponto de apresentar significância na epidemiologia da doença, o que não é verdade. Na estação das chuvas, os animais dos municípios estudados são intensamente parasitados por carrapatos e dípteros hematófagos, sendo alto o potencial de transmissão de patógenos. Sendo constatada ainda, alta incidência de dípteros hematófagos a ponto de haver mudança no comportamento do rebanho que tende a se agrupar na intenção de evitar as picadas de tabanídeos e *Stomoxys* sp. Outro fator que deve ser avaliado é a baixa infestação dos carrapatos pelo *A. marginale*, promovendo um menor índice de infecção nos bovinos, o que diminui a importância dos vetores mecânicos, pela ausência de rickketsias circulantes dificultando a transmissão mecânica de um animal para outro.

A prevalência de anticorpos homólogos para *B. burgdorferi* foi considerada alta, apesar de a região ser classificada como enzooticamente instável. Para este agente

devemos considerar que na metodologia empregada para realização do teste, foi utilizado o antígeno bruto de *Borrelia burgdorferi*, no entanto, *B. coriaceae*, *B. theileri* acometem bovinos podem reagir cruzadamente com antígeno de *B. burgdorferi*. Por isso, é necessário o desenvolvimento de provas sorológicas que façam distinção das diferentes espécies que acometem bovinos para avaliar o seu possível potencial zoonótico (ROGERS *et al.*, 1999).

A prevalência de *T. vivax* diferiu consideravelmente de estudos realizados por MADRUGA *et al.* (no prelo) apresentando-se alta em relação a estudos também no estado do Pará. Possivelmente, a alta prevalência detectada nos municípios estudados seja decorrente da queda de imunidade dos hospedeiros. Considerando o fato da transmissão deste agente, no Brasil, ser exclusivamente mecânica pelos dípteros hematófagos, para que os dípteros participem da transmissão, é necessário que o agente esteja presente na circulação dos animais para que contamine ao aparelho bucal do inseto através do hematofagismo, carregando o agente, em intervalo de tempo suficiente para infectar outros animais.

Segundo MADRUGA *et al.* (no prelo) a tripanossomose bovina é uma doença que se apresenta de forma branda, com alta morbidade e baixa mortalidade. Tendo em vista que a região estudada foi classificada como de estabilidade enzoótica para *B. bigemina* e *B. bovis*, o risco de ocorrência de surtos destes agentes é pequeno, sendo maior para *A. marginale*, porém, mediante os fatores que levam a baixa de imunidade dos animais, casos de doença clínica podem ocorrer como tem sido relatado. Este fato reforça a importância da tripanossomose no contexto da região como mais um componente do complexo TPB.

A prevalência de *T. vivax* (93,1%), foi significativamente maior que *A. marginale* (68,3%), sendo que ambos são transmitidos por dípteros hematófagos e o último também é transmitido por carrapatos. A diferença pode estar relacionada principalmente a metodologia usada no diagnóstico. No teste ELISA indireto realizado para *T. vivax* foi utilizado antígeno bruto possibilitando a ocorrência de reações inespecíficas devido a antígenos eritrocitários. Porém, mesmo considerando-se esta interferência, pode-se afirmar que a prevalência encontrada foi significativamente alta. Já no ELISA indireto realizado para *A. marginale*, foi usado o antígeno recombinante derivado de membranas de superfície MSP1a, que oferece as vantagens de ser bastante específico não apresentando as reações inespecíficas presentes em ELISAs que utilizam antígeno bruto.

BARBOSA (comunicação pessoal) relatou a ocorrência de doença clínica compatível com a TPB e Tripanosomose em bovinos nas fazendas onde foi desenvolvido o presente estudo, inclusive com diagnóstico parasitológico. Este fato reforça as altas prevalências observadas na presente pesquisa, indicando a coexistência de *T. vivax* com os agentes da tristeza parasitária. TOKARNIA (2000) em um trabalho de revisão de literatura relatou o problema de deficiência mineral relacionada ao estado do Pará. Como a deficiência mineral de Cu e Co resultam, de acordo com o autor, a diversos tipos de diminuição da resposta imune dos animais, é possível associar esta debilidade imunológica ao aparecimento de casos clínicos de TPB e tripanossomose. O constante contato com os agentes pela abundância de vetores (carrapatos e dípteros hematófagos), possibilita o desenvolvimento de imunidade, confirmada pela sorologia dos animais da região. Segundo AUTOR E ANO a deficiência de Cu e Co promove diminuição da imunorreatividade e resposta do organismo a infecções, deixando os animais mais susceptíveis a agentes que normalmente seriam integrantes da fauna natural do hospedeiro.

TABELA 6. Prevalência dos agentes *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* através do ensaio ELISA indireto em bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

Local	Frequência Positivos		Frequência Negativos		Total
	D.O. x 100/"Cut-off" (%) #	(n +)	%	(n -)	
<i>Babesia bigemina</i>	100 a 200	116			
	201 a 300	46	99,2	2	0,8
	301 a 400	46			
	> 401	36			
	Total	244			
			2		246
<i>Babesia bovis</i>	100 a 200	42			
	201 a 300	82	98,8	3	1,2
	301 a 400	92			
	> 401	27			
	Total	243			
			3		246
<i>Anaplasma marginale</i>	100 a 200	99			
	201 a 300	44	68,3	78	31,7
	301 a 400	22			
	> 401	3			
	Total	168			
					246
<i>Trypanosoma vivax</i>	100 a 200	76			
	201 a 300	67	93,1	17	6,9
	301 a 400	77			
	> 401	9			
	Total	229			
			17		246
<i>Borrelia burgdorferi</i>	100 a 200	79			
	201 a 300	28	54,9	111	45,1
	301 a 400	21			
	> 401	7			
	Total	135			
			111		246

= Média das densidades óticas das amostras dividido pelo valor do "cut off" de cada placa vezes 100.

(N +) = Número de soros positivos que estão contidos no intervalo descrito.

(N -) = Número de negativos. Levando-se em consideração que o valor do cut off de cada placa é considerado 100%. O número de soros com a razão(DO/cut off vezes 100) menor que o cut off da placa em que está incluído, são considerados negativos.

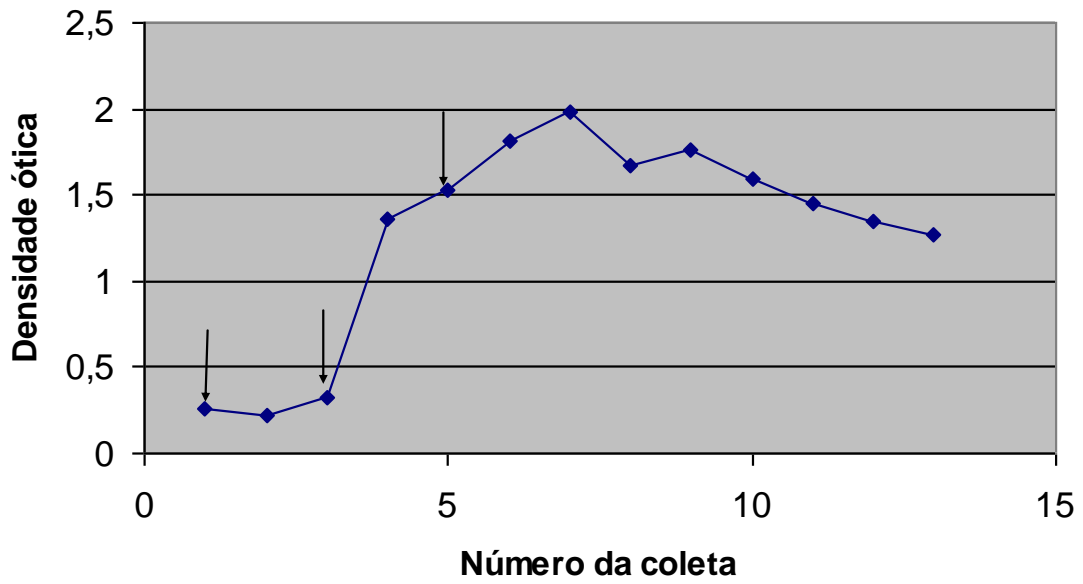
4.3. Estudo do Perfil da Produção de Anticorpos IgG no Bovino Utilizado como Controle Positivo para *B. burgdorferi*

O bezerro inoculado com o antígeno de *B. burgdorferi* utilizado como controle positivo não apresentou alterações clínicas nem no local de aplicação, tendo seu desenvolvimento normal durante o período de acompanhamento. Nas avaliações laboratoriais, foram realizados, semanalmente, hemograma completo e bioquímica sérica onde foi avaliado Aspartato aminotransferase (AST), Gamaglutamiltransferase (GGT), Uréia, Creatinina se mantiveram dentro dos parâmetros de normalidade segundo KANEKO (1997). Também foram realizados exames coprológicos quinzenalmente, que se mantiveram negativos durante o período de acompanhamento.

O bezerro imunizado apresentou o perfil da produção de anticorpos da classe IgG anti *B. burgdorferi* uma resposta crescente a partir do segundo inóculo, tendo alcançado o pico 15 dias após a administração do terceiro inóculo. Houve então um decréscimo gradativo até a 13^a semana, quando as coletas foram finalizadas.

Avaliando-se a densidade ótica das coletas de soro realizadas do animal inoculado, foi observado o maior valor na 7^a semana de coleta. Então foi escolhido como soro padrão teste o proveniente da 9^a coleta, por apresentar um nível satisfatório de anticorpos para execução do ELISA indireto.

Estudo do perfil da produção de anticorpos IgG no bovino utilizado como controle positivo para *B. burgdorferi*



Setas indicam as inoculações

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

Os anticorpos dos bovinos demonstraram possuir bom reconhecimento antigênico para *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia* sp.

A alta prevalência de animais soropositivos para *Babesia bigemina*, *B. bovis* e *Trypanosoma vivax* corrobora a hipótese de ocorra estabilidade enzoótica para estes agentes nos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá, estado do Pará.

A baixa prevalência de animais soropositivos para *A. marginale* e *Borrelia* sp corrobora a hipótese de ocorra instabilidade enzoótica para estes agentes nos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá, estado do Pará.

Os bovinos nos municípios estudados possuem anticorpos homólogos contra *Borrelia burgdorferi* cepa G39/40.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, F.R. 2005a. Avaliação das proteínas recombinantes MSP1a e MSP2 de *Anaplasma marginale*, associadas a oligonucleotídeo CpG 2006 como adjuvante , como imunógenos contra anaplasmose bovina. Tese de Doutorado Universidade Federal da Bahia, 171 pp.

ARAÚJO, F.R.; MADRUGA, C.R.; LEAL, C.R.B.; SCHENK, M.A.M.; KESSLER, R.H.; MARQUES, A.P.C.; LEMAIRE, D.C. 1998. Comparison between enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody and rapid agglutination tests in detecting antibodies against *Babesia bovis*. *Veterinary Parasitology*, 74: 101-108.

ARAÚJO, F.R.; MELO, V.S.P.; RAMOS, C.A.N.; MADRUGA, C.R.; SOARES, C.O.; KESSLER, R.H.; ALMEIDA, N.F.; ARAÚJO, G.S.; ALVES, L.C.; JÚNIOR, R.A.A.T.; FRAGOSO, S.P.; ARAUCO, P.R.C.; BACANELLI, G.; OLIVEIRA, M.B.; SANTOS, L.R. 2005b. Development of enzyme-linked immunosorbent assays based on recombinant MSP1a and MSP2 of *Anaplasma marginale*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 100(7): 765-769.

BARBET, A. F.; PALMER, G. H.; MYLER, P. J.; McGUIRE, T. C. 1987. Characterization of an immunoprotective protein complex of *Anaplasma marginale* by cloning and expression of the gene coding for polypeptide Am105L. *Infection and Immunity*, Bethesda, 55(10): 2428-2435.

BARRY, D. N.; PARKER, R. J.; DE VOS, A. J.; DUNSTER, P.; RODWELL, B. J. 1986. A microplate enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibody to *Anaplasma marginale* in cattle serum. *Australian Veterinary Journal*, Sydney, 63(3): 76-79.

BENNETT, C.E. 1995. Ticks and Lyme disease. *Advances Parasitology*, 36: 343-405.

BENXIU, J.; COLLINS, M. 1994. Seroepidemiologic survey of *Borrelia burgdorferi* exposure of dairy cattle in Wisconsin. *American Journal of Veterinary Research*, 55(9): 1228-1231.

BERARDI, V.P.; WEEKS, K.E.; STEERE, A.C. 1988. Serodiagnosis of early Lyme disease: analysis of IgM and IgG antibody responses by using an antibody-capture enzyme Immunoassay. *Journal of Infectious Diseases*, 158: 754-760.

BROWN, C.G.D. 1997 Dynamics and impact of tick-borne diseases of cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 29:15-35.

CARRIQUE MAS, J.J.; MORALES, G.J.; EDELSTEN, M.; 2000b. Endemic Instability for Babesiosis and Anaplasmosis in Cattle in the Bolivian Chaco. *The Veterinary Journal*, 169: 162-164.

CARRIQUE MAS, J.J.; WIDDOWSON, A.M.; CUÉLLAR, H.R.; WALKER, A.R. 2000a. Risk of babesiosis and anaplasmosis in different ecological zones of Santa Cruz Department, Bolivia. *Veterinary Parasitology*, 93: 29-38.

Centro Pan-Americano de Zoonosis, 1979. *Procedimientos para Estudios de Prevalencia por Muestreo*. Ramos Mejia, Buenos Aires. 35p. (Nota técnica 18, Rev. 1).

CICERONI, L.; BARTOLONI, A.; GUGLIELMETTI, P.; PARADISI, F.; BARAHONA, H.G.; ROSELLI, M.; CIARROCCHI, S.; CACCIAPUOTI, B. 1994. Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia parkeri* and *Borrelia turicatae* in human settlements of the Cordillera Province, Bolivia. *Journal of tropical Medicine and Hygiene*, 97: 13-17.

DALRYMPLE, B.P. 1992. Diversity and selection in *Babesia bovis* and their impact on vaccine use. *Parasitology Today*, 8: 21-23.

DÁVILA, A.M.R.; HERRERA, H.M.; SCHLEBINGER, T.; SOUZA, S.S.; TRAUB-CSEKO, Y.M. 2003. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 117: 1-13.

DE VOS, A.J.; POTGIETER, F.T. 1983. The effect of tick control on the epidemiology of bovine babesiosis. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 50: 3-5.

DESQUESNES, M.; DIA, M.L. 2003. *Tripanosoma vivax*: Mechanical transmission by one of the most common African tabanids, *Atylotus agrestis*. *Experimental Parasitology*, 103: 35-43.

DESQUESNES, M.; DIA, M.L. 2004. Mechanical transmission of *Tripanosoma vivax* in cattle by the african tabanid *Atylotus fuscipes*. *Veterinary Parasitology*, 119: 9-19.

FONSECA, A.H.; ISHIKAWA, M.M.; SOARES, C.O.; MASSARD, C.L.; YOSHINARI, N.H. 1996. Lyme borreliose serology in cattle in Brazil. *Revista da Universidade Rural, série Ciências da Vida*, 18(1/2): 85-89.

FRENCH JR, J.B.; SCHELL, W.L.; KAZMIERCZACK, J.J.; DAVIS, J.P. 1992. Changes in population density and distribution of *Ixodes damini* (Acari:Ixodidae)in Wisconsin during 1980s. *Journal of Medical Entomology*, 29: 723-728.

FREY, A.; CANZIO, J. D.; ZURAKOWSKI, D. 1998. A statistically defined endpoint titer determination method for immunoassays. *Journal of Immunological Methods*, 221: 35-41.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. 2002. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *Hora Veterinária*, Rio de Janeiro, 125: 8-10.

GUGLIELMONE, A.A. 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central América. *Veterinary Parasitology*, 57:109-119.

GUGLIEMONE, A.A. 1992. Epizootiologia de las enfermedades hemoparasitarias de los vacunos. *Revista Cubana de Ciências Veterinárias*, 23: 73-108.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2003. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>.

ISHIKAWA, M.M. 1996. Epidemiologia da borreliose de Lyme em bovinos na região sudeste do Brasil e Padronização do diagnóstico sorológico. Tese de Mestrado, UFRRJ, Rio de Janeiro, 51pp.

ISHIKAWA, M.M. 2000. Perfil da produção de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* em bovinos e estudo de infecções simultâneas com diferentes estímulos antigênicos, em condições experimental e natural. Tese de Doutorado, UFRRJ, Rio de Janeiro, 80pp.

KENNEDY, D. G.; BLANCHFLOWER, W. J.; SCOTT, J. M. WEIR, D. G.; MOLLOY, A. M.; KENNEDY, S.; YOUNG, P.B. 1992. Cobalt-vitamin B₁₂ deficiency

decreases methionine synthase activity and phospholipid methylation in sheep. *Journal of Nutrition*, 122: 1384-1390.

KESSLER, R.H., 2001. Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21(4): 177-179.

KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. 1998. *Diagnóstico parasitológico da tristeza parasitária bovina*. In: Kessler R.H.; Schenk, M.A.M. (ed.) Carrapato Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos Bovinos. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, p. 81-90.

KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; MADRUGA, C.R.; GOMES, A. 1998. Viability of a method for the isolation of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* to create a strain bank from five physiographical regions of Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 7: 91-94.

KOCAN, K. M., STILLER, D.; GOFF, W. L.; CLAYPOOL, P. L.; EDWARDS, W.; EWING, S. A.; MCGUIRE, T. C.; HAIR, J. A.; BARRON, S. J. 1992a. Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from infected to susceptible cattle. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, 53: 499-507.

KOCAN, K. M.; FUENTE, J.; GUGLIELMONE, A. A.; MELENDEZ, R. D. 2003. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, 16: 698-712,

KOLLER, W.W.; BARROS, A.T.M.; GOMES, A.; MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, C.P.; UMAKI, A.; ISMAEL, A.P.K. Sazonalidade de Tabanídeos (Díptera: Tabanidae) em área de transição entre o cerrado e Pantanal, no Mato Grosso do Sul, Brasil. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA*, 12. Rio de Janeiro, 2002. Programas e resumos, Rio de Janeiro: CBPV/UFRRJ/PJ Eventos, R376. pdf (CD-ROM).

LUCKINS, A.G. 1977. Detection of antibodies in trypanosome infected cattle by means of a microplate enzyme-linked immunosorbent assay. *Tropical Animal Health and Production*, 9: 53-62.

LUKASEWYCZ, O. A.; PROHASKA, J. R. 1983. Lymphocytes from copper-deficient mice exhibit decreased mitogen reactivity. *Nutritional Research*, 3: 335.

MADRUGA, C. R.; MARQUES, A. P. C.; LEAL, C. R. B.; CARVALHO, C. M. E.; ARAÚJO, F. R.; KESSLER, R. H. 2000a. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against *Anaplasma marginale*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, 20(3): 109-112.

MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R.; MARQUES, A.P.C.; CARVALHO, C.M.E.; CUSINATO, E.Q.; CROCCI, A.J.; KESSLER, R.H.; MIGUITA, M. 2000b. Desenvolvimento de uma prova de imunoabsorção enzimática para a detecção de anticorpos contra *Babesia bovis*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 20:167-170.

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.S.; ALMEIDA, R.F.C.; LIMA JR, M.S.C. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. *Veterinary Parasitology*. No prelo.

MADRUGA, C.R.; BERNE, M.E.A.; KESSLER, R.H.; GOMES, R.F.C.; LIMA, J.G.; SCHENK, M.A.M. 1986a. Diagnóstico da tristeza parasitária bovina no Estado de Mato Grosso do Sul: Inquérito de opinião. *Circular Técnico* 18, Embrapa-CNPGC, Campo Grande, p. 1-40.

MADRUGA, C.R.; MARQUES, A.P.C.; ARAÚJO, F.R.; MIGUITA, M.; CARVALHO, C.M.E.; ARAÚJO, F.S.; UMAKI, A.C.S.; CROCCI, A.J.; QUEIROZ, R.A.; 2001. Evaluation of an ELISA for detection of antibodies to *Babesia bigemina* in cattle and its application in an epidemiological survey in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21(2): 72-76.

MAGONA, J.W.; WALUBENGO, J.; ODIIT, M.; OKEDI, L.A.; ABILA, P.; KATABAZI, B.K.; GIDUDU, A.M.; OLAHO-MUKANI, W. 2005. Implications of the re-invasion of Southeast Uganda by *Glossina pallidipes* on the epidemiology of bovine trypanosomosis. *Veterinary Parasitology*, 128: 1-9.

MAHONEY, D.F. & ROSS, D.R. 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Australian Veterinary Journal*, 48: 292-298.

MAHONEY, D.F. 1975. *The diagnosis of babesiosis in Australia*. In: Wells E.A. (ed.) *Workshop on Hemoparasites (Anaplasmosis and Babesiosis)*. CIAT, Cali, Colombia, p.49-62

MAHONEY, D.F. 1977. *Babesia of domestic animals*. In: Kreier J.P. (ed.) *Parasitic Protozoa*. Vol. 4. Academic Press, New York, p.1-52

MAHONEY, D.F.; WRIGHT, I.G.; MIRRE, G.B.; 1973. Bovine babesiosis: The persistence of immunity to *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* in calves (*Bos taurus*) after naturally acquired infection. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 67: 197-203.

Manual of Tropical Veterinary Parasitology. 1981. CAB International, Wallingford, French Edition. Ministère de la Coopération et du développement.

MATTOLI, R.C.; FAYE, J.A. 1996. A comparative study of the parasitological buffy coat technique and an antigen enzyme immunoassay for trypanosome diagnosis in sequential *Trypanosoma congolense* infections in N`Dama, Gobra zebu and N`Dama x Gobra crossbred cattle. *Acta tropica*, 62: 71-81.

OBERLE, S. M.; PALMER, G. H.; BARBET, A. F. 1993. Expression and immune recognition of the conserved MSP4 outer membrane protein of *Anaplasma marginale*. *Infection and Immunity*, Bethesda, 61(12): 5245-5251.

OBERLE, S.M.; PALMER, G.H.; BARBET, A.F.; MCGUIRE, T.C. 1988. Molecular size variations in an immunoprotective protein complex among isolates of *Anaplasma marginale*. *Infection and Immunity*, 56: 1567-1573.

OTTE, M.J.; ABUABARA, J.Y.; WELLS, E.A. 1994. *Trypanosoma vivax* in Colombia: epidemiology and production losses. *Tropical Animal Health and Production*, 26: 146-156.

PAIVA, F.; LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L.; BRUM, K.B.; BERNARDO, K.C.; MADRUGA, C.R.; SCHENK, M.A. 2000a. *Trypanosoma vivax* em bovinos no

Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil :II – Inoculação experimental. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 9(2): 143-148.

PAIVA, F.; LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L.; MORI, A.E.; BRUM, K.B.; BERNARDO, K.C. 2000b. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I – Acompanhamento clínico laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 9(2): 135-141.

PAIVA, F.; LEMOS, R.A.A.; OSHIRO, E.T.; SALVADOR, S.C.; & NAKAZATO, L. 1997. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado do Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 6 (2): 1-349.

PALMER, G.H.; BARBET, A.F.; KUTTLER, K.L.; MCGUIRE, T.C. 1986. Detection of an *Anaplasma marginale* common surface protein present in all stages of infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 23: 1078-1083.

PURNELL, R.E. 1981. *Babesiosis in various host*. In: *Ristic M. & Kreier J.P.* (ed.) *Babesiosis*. Academic Press, New York, p. 25-63.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K.; CARTER, G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. First Edition. Wolfe Publishing, London, p.292-303.

REBESKI, D.E.; WINGER, E.M.; OKORO, H.; KOWALIKI, S.; BURGER, H.J.; WALTER, D.E.; ROBINSON, M.M.; DWINGER, R.H.; CROWTHER, J.R. 2000b. Detection of *Trypanosoma congolense* antibodies with indirect ELISAs using antigen-precoated microtitre plates. *Veterinary Parasitology*, p. 187-198.

REGASSA, A.; PENZHORN, B.L.; BRYSON, N.R. 2003. Attainment of stability to *Babesia bigemina* in cattle on a South African ranch where non-intensive tick control was applied. *Veterinary Parasitology*, 116: 267-274.

RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D.; SALCEDO, J.H.P.; 1996. Attempted Transmisión of *Anaplasma marginale* by infected *Boophilus microplus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 48: 397-401.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.D.C.; LEMOS, R.A.A. 2001. Doenças de ruminantes e eqüinos. São Paulo, Editora Varela, 574p.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O. Doenças dos ruminantes e eqüinos do semi-árido da Paraíba. 2003. Semi-árido em foco. Revista de educação continuada do centro de saúde e tecnologia rural. Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB. 1(1):116p.

ROGERS, A.B.; SMITH, R.D.; KAKOMA, I. 1999. Serologic cross-reactivity of antibodies against *Borrelia burgdorferi*, and *Borrelia coreaceae* in cattle. American Journal of Veterinary Research, 60 (6): 695-697.

SEIDL, A.; DÁVILA, A.M.R.; SILVA, R.A.M.S. 1999. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the brazilian Pantanal and bolivian lowlands. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 94(2): 269-272.

SILVA, R.A.M.; DA SILVA, J.A.; SCHNEIDER, R.C.; DE FREITAS, J.; MESQUITA, T.C.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R.; PEREIRA, M.E.B. 1996. Outbreak of tripanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 91: 561-562.

SILVA, R.A.M.S.; MORALES, G.; EULERT, E.; MONTENEGRO, A.; YBAÑEZ, R. 1998. Outbreaks of trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in cattle in Bolívia. *Veterinary Parasitology*, 76: 153-157.

SILVA, M.C.S. Ocorrência de *Trypanosoma* spp em bovinos e bubalinos no estado do Pará e estudo comparativo dos métodos de diagnóstico de *Trypanosoma evansi*. 2002.m Mestrado, Universidade Federal do Pará-Ciência Animal, 76p.

SMITH, R.D., MIRAPURI, G.S., ADAMS, J.H., AHRENS, E.H. 1985. *Borrelia theileri*: Isolation from ticks (*Boophilus microplus*) and tick-borne transmission between splenectomized calves. *American Journal of Veterinary Research*, 46:1396-1398.

SMITH, R.D.; ROGERS, A.B. 1998. *Borrelia theileri*: A Review. *Journal of Spirochetel and Tick-borne Diseases*, 5(4):63-68.

SNOW, W.F.; RAWLINGS, P. 1999. Methods for the rapid appraisal of African animal trypanosomosis in the Gambia. *Preventive Veterinary Medicine*, 42: 67-86.

SOARES, C.O.; SOUZA, J.C.P., MADRUGA, C.R.; MADUREIRA, R.C.; MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H. 2000. Soroprevalência de *Babesia bovis* em bovinos na Mesorregião Norte Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 20(2): 75-79.

SOLORIO-RIVERA, J.L.; RODRIGUES-VIVAS, R.I.; PÉREZ-GUTIERREZ, E.; WAGNER, G.; 1999. Management factors associated with *Babesia bovis* seroprevalence in cattle from eastern Yucatán, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, 40: 261-269.

SOUZA, J.C.P., MASSARD, C.L.; SOARES, C.O.; SCOFIELD, A.; MADRUGA, C.R.; FONSECA, A.H. 2000 c. Soroprevalência de *Babesia bovis* (BABÉS, 1888) na Mesorregião do médio Paraíba do estado do Rio de Janeiro. *Revista da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, série Ciências da Vida*, 22(Suplemento): 01-08.

SOUZA, J.C.P., SOARES, C.O.; MADUREIRA, R.C.; MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H. 2000 a. Soroprevalência de *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) na Mesorregião do médio Paraíba do estado do Rio de Janeiro. *Revista da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, série Ciências da Vida*, 22(Suplemento): 17-24.

SOUZA, J.C.P., SOARES, C.O.; MASSARD, C.L.; SCOFIELD, A.; FONSECA, A.H. 2000 d. Soroprevalência de *Anaplasma marginale* na Mesorregião Norte Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 20(3): 97-101.

SOUZA, J.C.P., SOARES, C.O.; SCOFIELD, A.; MADRUGA, C.R.; CUNHA, N.C.; MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H. 2000 b. Soroprevalência de *Babesia bigemina* em bovinos na Mesorregião Norte Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 20(1): 26-30.

SPEARS, J.W. 2000. Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the Nutrition Society*. 59: 587-594.

STABEL, J. R.; SPEARS, J. W.; BROWN JR, T. T. 1993. Effect of copper deficiency on tissue, blood characteristics, and immune function of calves challenged with infectious

bovine rhinotracheitis virus and *Pasteurella hemolytica*. *Journal of Animal Science*, 71: 1247-1255.

TEBELE, N., McGUIRE, T. C., PALMER, G. H. 1991. Induction of protective immunity by using *Anaplasma marginale* initial body membranes. *Infection and Immunity*, Bethesda, 59(9): 3199-3204.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. 2000. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente em regime de campo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 20(3):127-138.

TORIONI DE ECHAIDE, S.; KNOWLES, D. P.; McGUIRE, T. C.; PALMER, G. H.; SUAREZ, C. E.; McELWAIN, T. F. 1998. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major surface protein 5. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, 36: 777-782.

UILENBERG, G. A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis. 1998. Food and Drug and Agriculture Organization of the United Nations. Rome- FAO. (adapted from the original edition by W.P. Boyt) ISBN 92-5-104238-1.

ULVUND, M. J.; PESTALOZZI, M. 1990. Ovine white-liver disease (OWLD) in Norway: clinical symptoms and preventive measures. *Acta Veterinaria scand.*, 31: 53-62.

VAN DEN BOSSCHE, P.; SHUMBA, W.; MAKHAMBERA, P. 2000. The distribution and epidemiology of trypanosomosis in Malawi. *Veterinary Parasitology*, 88: 163-176.

VELLEMA, P.; RUTTEN, V. P. M. G.; HOEK, A.; MOLL, L.; WENTINK, G. H. 1996. The effect of cobalt supplementation on the immune response in vitamin B₁₂ deficient Texel lambs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 55: 151-161.

WINDHAUSER, M. M.; KAPPEL, L. C.; MCCLURE, J.; HEGSTED, M. 1991. Suboptimal levels of dietary copper vary immunoresponsiveness in rats. *Biology Trace Elements Research*, 30: 205.

WRIGHT I.G.; GOODGER, B.V. 1988. *Pathogenesis of babesiosis*. In: RISTIC, M. (ed.) *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 100-118.

YOSHINARI, N.H.; BARROS, P.J.L.; BONOLDI, V.L.N.; ISHIKAWA, M.M.; BATTESTI, D.M.B.; PIRANA, S.; FONSECA, A.H.; SCHUMACKER, T.T. 1997. Perfil da borreliose de Lyme no Brasil. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*, 52(2): 111-117.

YOSHINARI, N.H.; STEERE, A.C.; COSSERMELLI, W. 1989. Revisão da borreliose de Lyme. *Revista da Associação Médica do Brasil*, 35(1): 34-37.

7. ANEXOS

Anexo 1. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bigemina* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

C	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
1	0,721	0,761	0,741	0,182	407,1
2	0,673	0,660	0,667	0,182	366,2
3	0,675	0,628	0,652	0,182	358,0
4	0,581	0,595	0,588	0,182	323,1
5	0,622	0,632	0,627	0,182	344,5
6	0,684	0,642	0,663	0,182	364,3
7	0,616	0,581	0,599	0,182	328,8
8	0,568	0,593	0,581	0,182	319,0
9	0,688	0,646	0,667	0,182	366,5
10	0,781	0,760	0,771	0,182	423,4
11	0,649	0,658	0,654	0,182	359,1
12	0,623	0,567	0,595	0,182	326,9
13	0,625	0,652	0,639	0,182	350,8
14	0,790	0,790	0,790	0,182	434,1
15	0,767	0,799	0,783	0,182	430,2
16	0,369	0,367	0,368	0,182	202,2
17	0,823	0,803	0,813	0,182	446,7
18	0,838	0,878	0,858	0,182	471,4
19	0,558	0,594	0,576	0,182	316,5
20	0,584	0,628	0,606	0,182	333,0
21	0,288	0,293	0,291	0,182	159,6
22	0,834	0,911	0,873	0,182	479,4
23	0,508	0,600	0,554	0,182	304,4
24	0,590	0,572	0,581	0,182	319,2
25	0,603	0,601	0,602	0,182	330,8
26	0,822	0,745	0,784	0,182	430,5
27	0,867	0,929	0,898	0,182	493,4
28	0,546	0,576	0,561	0,182	308,2
29	0,532	0,576	0,554	0,182	304,4
30	0,802	0,775	0,789	0,182	433,2
31	0,490	0,483	0,487	0,182	267,3
32	0,504	0,483	0,494	0,182	271,2
33	0,714	0,739	0,727	0,182	399,2
34	0,844	0,819	0,832	0,189	439,9
35	0,693	0,703	0,698	0,189	369,3
36	0,875	0,880	0,878	0,189	464,3
37	0,376	0,355	0,366	0,189	193,4
38	0,862	0,889	0,876	0,189	463,2
39	0,853	0,844	0,849	0,189	448,9
40	0,890	0,963	0,927	0,189	490,2
41	0,862	0,882	0,872	0,189	461,4
42	0,878	0,884	0,881	0,189	466,1
43	0,971	0,919	0,945	0,189	500,0
44	0,555	0,595	0,575	0,189	304,2
45	0,944	0,947	0,946	0,189	500,3
46	0,918	0,958	0,938	0,189	496,3
47	0,652	0,659	0,656	0,189	346,8
48	0,873	0,868	0,871	0,189	460,6
49	0,920	0,910	0,915	0,189	484,1
50	0,629	0,659	0,644	0,189	340,7
51	0,801	0,807	0,804	0,189	425,4
52	0,967	0,891	0,929	0,189	491,5
53	0,905	0,977	0,941	0,189	497,9
54	0,951	0,987	0,969	0,189	512,7
55	0,788	0,775	0,782	0,189	413,5
56	0,222	0,235	0,229	0,189	120,9

Anexo 1. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bigemina* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
57	0,922	0,931	0,927	0,189	490,2
58	0,950	0,893	0,922	0,189	487,6
59	0,873	0,907	0,890	0,189	470,9
60	0,689	0,692	0,691	0,189	365,3
61	0,970	0,916	0,943	0,189	498,9
62	0,802	0,868	0,835	0,189	441,8
63	0,745	0,725	0,735	0,189	388,9
64	0,912	0,922	0,917	0,189	485,2
65	0,615	0,598	0,607	0,189	320,9
66	0,853	0,834	0,844	0,189	446,3
67	0,832	0,801	0,817	0,189	432,0
68	0,678	0,690	0,684	0,189	361,9
69	0,650	0,670	0,660	0,322	205,0
70	0,596	0,566	0,581	0,322	180,4
71	0,332	0,346	0,339	0,322	105,3
72	0,408	0,394	0,401	0,322	124,5
73	0,639	0,620	0,630	0,322	195,5
74	0,785	0,773	0,779	0,322	241,9
75	0,543	0,539	0,541	0,322	168,0
76	0,764	0,817	0,791	0,322	245,5
77	0,564	0,570	0,567	0,322	176,1
78	0,685	0,656	0,671	0,322	208,2
79	0,454	0,459	0,457	0,322	141,8
80	0,548	0,532	0,540	0,322	167,7
81	0,488	0,512	0,500	0,322	155,3
82	0,443	0,458	0,451	0,322	139,9
83	0,713	0,697	0,705	0,322	218,9
84	0,602	0,593	0,598	0,322	185,6
85	0,651	0,674	0,663	0,322	205,7
86	0,451	0,438	0,445	0,322	138,0
87	1,208	1,192	1,200	0,322	372,7
88	0,545	0,574	0,560	0,322	173,8
89	0,385	0,382	0,384	0,322	119,1
90	0,912	0,989	0,951	0,322	295,2
91	0,451	0,475	0,463	0,322	143,8
92	0,525	0,514	0,520	0,322	161,3
93	0,637	0,604	0,621	0,322	192,7
94	0,358	0,333	0,346	0,322	107,3
95	0,499	0,476	0,488	0,322	151,4
96	0,464	0,506	0,485	0,322	150,6
97	0,411	0,443	0,427	0,322	132,6
98	0,742	0,726	0,734	0,322	228,0
99	0,360	0,386	0,373	0,322	115,8
100	0,561	0,554	0,558	0,322	173,1
101	0,510	0,530	0,520	0,322	161,5
102	0,548	0,530	0,539	0,322	167,4
103	0,519	0,563	0,541	0,322	168,0
104	0,631	0,645	0,638	0,345	184,9
105	0,563	0,569	0,566	0,345	164,1
106	0,664	0,653	0,659	0,345	190,9
107	0,429	0,454	0,442	0,345	128,0
108	0,607	0,631	0,619	0,345	179,4
109	0,578	0,549	0,564	0,345	163,3
110	0,611	0,636	0,624	0,345	180,7
111	0,509	0,525	0,517	0,345	149,9
112	0,343	0,384	0,364	0,345	105,4

Anexo 1. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bigemina* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
113	0,607	0,603	0,605	0,345	175,4
114	0,589	0,626	0,608	0,345	176,1
115	0,442	0,469	0,456	0,345	132,0
116	0,467	0,453	0,460	0,345	133,3
117	0,398	0,402	0,400	0,345	115,9
118	0,541	0,522	0,532	0,345	154,1
119	0,601	0,622	0,612	0,345	177,2
120	0,560	0,542	0,551	0,345	159,7
121	0,537	0,542	0,540	0,345	156,4
122	0,483	0,485	0,484	0,345	140,3
123	0,346	0,313	0,330	0,345	95,5
124	0,690	0,674	0,682	0,345	197,7
125	0,530	0,523	0,527	0,345	152,6
126	0,597	0,607	0,602	0,345	174,5
127	0,397	0,377	0,387	0,345	112,2
128	0,566	0,586	0,576	0,345	167,0
129	0,457	0,440	0,449	0,345	130,0
130	0,538	0,524	0,531	0,345	153,9
131	0,596	0,555	0,576	0,345	166,8
132	0,575	0,597	0,586	0,345	169,9
133	0,559	0,587	0,573	0,345	166,1
134	0,508	0,471	0,490	0,345	141,9
135	0,512	0,524	0,518	0,345	150,1
136	0,422	0,456	0,439	0,345	127,2
137	0,505	0,478	0,492	0,345	142,5
138	0,800	0,785	0,793	0,345	229,7
139	0,982	1,016	0,999	0,416	240,1
140	0,560	0,514	0,537	0,416	129,1
141	0,603	0,673	0,638	0,416	153,4
142	0,511	0,541	0,526	0,416	126,4
143	0,552	0,602	0,577	0,416	138,7
144	0,667	0,643	0,655	0,416	157,5
145	0,751	0,756	0,754	0,416	181,1
146	0,708	0,670	0,689	0,416	165,6
147	0,511	0,503	0,507	0,416	121,9
148	0,627	0,674	0,651	0,416	156,4
149	0,546	0,583	0,565	0,416	135,7
150	0,579	0,561	0,570	0,416	137,0
151	0,901	0,931	0,916	0,416	220,2
152	0,844	0,837	0,841	0,416	202,0
153	0,487	0,533	0,510	0,416	122,6
154	0,866	0,829	0,848	0,416	203,7
155	0,792	0,808	0,800	0,416	192,3
156	0,902	0,847	0,875	0,416	210,2
157	0,685	0,681	0,683	0,416	164,2
158	0,652	0,672	0,662	0,416	159,1
159	0,813	0,849	0,831	0,416	199,8
160	0,525	0,561	0,543	0,416	130,5
161	0,550	0,588	0,569	0,416	136,8
162	0,633	0,667	0,650	0,416	156,3
163	1,053	1,029	1,041	0,416	250,2
164	0,580	0,544	0,562	0,416	135,1
165	0,610	0,628	0,619	0,416	148,8
166	0,583	0,591	0,587	0,416	141,1
167	0,504	0,527	0,516	0,416	123,9
168	0,582	0,605	0,594	0,416	142,7

Anexo 1. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bigemina* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
169	0,721	0,671	0,696	0,416	167,3
170	0,496	0,486	0,491	0,416	118,0
171	0,586	0,634	0,610	0,416	146,6
172	0,540	0,511	0,526	0,416	126,3
173	0,540	0,519	0,530	0,416	127,3
174	0,558	0,571	0,565	0,363	155,5
175	0,783	0,809	0,796	0,363	219,3
176	0,650	0,630	0,640	0,363	176,3
177	0,797	0,783	0,790	0,363	217,6
178	0,594	0,609	0,602	0,363	165,7
179	0,805	0,766	0,786	0,363	216,4
180	0,602	0,629	0,616	0,363	169,6
181	1,063	1,099	1,081	0,363	297,8
182	0,813	0,761	0,787	0,363	216,8
183	0,556	0,546	0,551	0,363	151,8
184	0,634	0,655	0,645	0,363	177,5
185	0,549	0,521	0,535	0,363	147,4
186	0,540	0,581	0,561	0,363	154,4
187	0,677	0,688	0,683	0,363	188,0
188	0,799	0,855	0,827	0,363	227,8
189	0,545	0,524	0,535	0,363	147,2
190	0,717	0,752	0,735	0,363	202,3
191	0,759	0,660	0,710	0,363	195,5
192	0,594	0,599	0,597	0,363	164,3
193	0,322	0,319	0,321	0,363	88,3
194	0,471	0,464	0,468	0,363	128,8
195	0,662	0,621	0,642	0,363	176,7
196	0,906	0,966	0,936	0,363	257,9
197	0,586	0,566	0,576	0,363	158,7
198	0,420	0,403	0,412	0,363	113,4
199	0,507	0,550	0,529	0,363	145,6
200	0,547	0,541	0,544	0,363	149,9
201	0,806	0,768	0,787	0,363	216,8
202	0,700	0,672	0,686	0,363	189,0
203	0,603	0,580	0,592	0,363	162,9
204	0,545	0,570	0,558	0,363	153,6
205	0,713	0,793	0,753	0,363	207,4
206	0,655	0,628	0,642	0,363	176,7
207	0,635	0,607	0,621	0,363	171,1
208	0,412	0,403	0,408	0,363	112,3
209	0,549	0,545	0,547	0,173	316,2
210	0,588	0,622	0,605	0,173	349,7
211	0,613	0,602	0,608	0,173	351,2
212	0,461	0,473	0,467	0,173	269,9
213	0,589	0,578	0,584	0,173	337,3
214	0,511	0,512	0,512	0,173	295,7
215	0,463	0,467	0,465	0,173	268,8
216	0,441	0,472	0,457	0,173	263,9
217	0,586	0,585	0,586	0,173	338,4
218	0,430	0,420	0,425	0,173	245,7
219	0,569	0,578	0,574	0,173	331,5
220	0,401	0,376	0,389	0,173	224,6
221	0,505	0,511	0,508	0,173	293,6
222	0,544	0,558	0,551	0,173	318,5
223	0,491	0,511	0,501	0,173	289,6
224	0,544	0,575	0,560	0,173	323,4

Anexo 1. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bigemina* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
225	0,537	0,542	0,540	0,173	311,8
226	0,654	0,648	0,651	0,173	376,3
227	0,718	0,668	0,693	0,173	400,6
228	0,519	0,519	0,519	0,173	300,0
229	0,519	0,526	0,523	0,173	302,0
230	0,429	0,405	0,417	0,173	241,0
231	0,584	0,593	0,589	0,173	340,2
232	0,639	0,592	0,616	0,173	355,8
233	0,552	0,542	0,547	0,173	316,2
234	0,24	0,229	0,235	0,173	135,5
235	0,398	0,391	0,395	0,173	228,0
236	0,405	0,353	0,379	0,173	219,1
237	0,567	0,562	0,565	0,173	326,3
238	0,522	0,512	0,517	0,173	298,8
239	0,748	0,774	0,761	0,173	439,9
240	0,512	0,501	0,507	0,173	292,8
241	0,642	0,631	0,637	0,173	367,9
242	0,518	0,516	0,517	0,173	298,8
243	0,45	0,476	0,463	0,173	267,6
244	0,510	0,486	0,498	0,192	259,4
245	0,651	0,692	0,672	0,192	349,7
246	0,579	0,544	0,562	0,192	292,4

Anexo 2. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bovis* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	Densidade Ótica de cada amostra em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
1	0,749	0,784	0,767	0,323	237,3
2	0,691	0,668	0,680	0,323	210,4
3	0,687	0,663	0,675	0,323	209,0
4	0,742	0,753	0,748	0,323	231,4
5	0,779	0,784	0,782	0,323	242,0
6	0,947	0,897	0,922	0,323	285,4
7	0,772	0,797	0,785	0,323	242,9
8	0,752	0,709	0,731	0,323	226,2
9	0,723	0,729	0,726	0,323	224,8
10	0,987	0,873	0,930	0,323	287,9
11	0,548	0,556	0,552	0,323	170,9
12	0,756	0,681	0,719	0,323	222,4
13	0,793	0,794	0,794	0,323	245,7
14	0,879	0,856	0,868	0,323	268,6
15	0,834	0,815	0,825	0,323	255,3
16	0,426	0,426	0,426	0,323	131,9
17	0,738	0,780	0,759	0,323	235,0
18	0,956	0,933	0,945	0,323	292,4
19	0,652	0,674	0,663	0,323	205,3
20	0,727	0,714	0,721	0,323	223,1
21	0,690	0,688	0,689	0,323	213,3
22	1,173	1,217	1,195	0,323	370,0
23	0,778	0,750	0,764	0,323	236,5
24	0,747	0,745	0,746	0,323	231,0
25	0,719	0,719	0,719	0,323	222,6
26	0,932	0,919	0,926	0,323	286,5
27	0,835	0,887	0,861	0,323	266,6
28	0,565	0,577	0,571	0,323	176,8
29	0,608	0,639	0,624	0,323	193,0
30	0,698	0,709	0,704	0,323	217,8
31	0,488	0,490	0,489	0,323	151,4
32	0,466	0,474	0,470	0,323	145,5
33	0,673	0,696	0,685	0,323	211,9
34	0,827	0,816	0,822	0,370	222,0
35	0,511	0,635	0,573	0,370	154,9
36	0,797	0,798	0,798	0,370	215,5
37	0,448	0,413	0,431	0,370	116,4
38	0,898	0,951	0,925	0,370	249,9
39	0,855	0,848	0,852	0,370	230,1
40	0,968	1,028	0,998	0,370	269,7
41	0,796	0,813	0,805	0,370	217,4
42	0,813	0,839	0,826	0,370	223,2
43	0,927	0,990	0,959	0,370	259,1
44	0,493	0,513	0,503	0,370	135,9
45	0,906	0,928	0,917	0,370	247,8
46	0,903	0,861	0,882	0,370	238,4
47	0,897	0,863	0,880	0,370	237,8
48	1,057	1,069	1,063	0,370	287,3
49	1,003	1,009	1,006	0,370	271,9
50	0,753	0,771	0,762	0,370	205,9
51	0,733	0,740	0,737	0,370	199,1
52	0,767	0,783	0,775	0,370	209,5
53	0,733	0,719	0,726	0,370	196,2
54	0,930	0,994	0,962	0,370	260,0
55	0,849	0,869	0,859	0,370	232,2
56	0,443	0,467	0,455	0,370	123,0

Anexo 2. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bovis* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	Densidade Ótica de cada amostra em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
57	1,117	1,133	1,125	0,370	304,1
58	0,836	0,849	0,843	0,370	227,7
59	0,834	0,825	0,830	0,370	224,2
60	0,702	0,686	0,694	0,370	187,6
61	0,868	0,891	0,880	0,370	237,7
62	0,680	0,700	0,690	0,370	186,5
63	0,800	0,800	0,800	0,370	216,2
64	0,951	0,905	0,928	0,370	250,8
65	0,650	0,612	0,631	0,370	170,5
66	0,841	0,790	0,816	0,370	220,4
67	0,864	0,899	0,882	0,370	238,2
68	0,596	0,596	0,596	0,370	161,1
69	0,628	0,666	0,647	0,334	193,7
70	0,599	0,600	0,600	0,334	179,5
71	0,342	0,352	0,347	0,334	103,9
72	0,397	0,416	0,407	0,334	121,7
73	0,762	0,781	0,772	0,334	231,0
74	0,776	0,705	0,741	0,334	221,7
75	0,695	0,777	0,736	0,334	220,4
76	0,807	0,776	0,792	0,334	237,0
77	0,619	0,595	0,607	0,334	181,7
78	0,633	0,657	0,645	0,334	193,1
79	0,511	0,583	0,547	0,334	163,8
80	0,783	0,728	0,756	0,334	226,2
81	0,501	0,519	0,510	0,334	152,7
82	0,562	0,566	0,564	0,334	168,9
83	0,830	0,826	0,828	0,334	247,9
84	0,662	0,670	0,666	0,334	199,4
85	0,648	0,695	0,672	0,334	201,0
86	0,517	0,477	0,497	0,334	148,8
87	1,224	1,254	1,239	0,334	371,0
88	0,660	0,598	0,629	0,334	188,3
89	0,501	0,492	0,497	0,334	148,7
90	1,020	1,038	1,029	0,334	308,1
91	0,546	0,534	0,540	0,334	161,7
92	0,671	0,648	0,660	0,334	197,5
93	0,643	0,668	0,656	0,334	196,3
94	0,556	0,571	0,564	0,334	168,7
95	0,609	0,569	0,589	0,334	176,3
96	0,584	0,561	0,573	0,334	171,4
97	0,521	0,518	0,520	0,334	155,5
98	0,749	0,758	0,754	0,334	225,6
99	0,431	0,459	0,445	0,334	133,2
100	0,646	0,651	0,649	0,334	194,2
101	0,684	0,702	0,693	0,334	207,5
102	0,575	0,588	0,582	0,334	174,1
103	0,730	0,746	0,738	0,334	221,0
104	0,607	0,611	0,609	0,342	178,1
105	0,676	0,672	0,674	0,342	197,1
106	0,728	0,769	0,749	0,342	218,9
107	0,557	0,579	0,568	0,342	166,1
108	0,755	0,814	0,785	0,342	229,4
109	0,614	0,617	0,616	0,342	180,0
110	0,768	0,763	0,766	0,342	223,8
111	0,552	0,544	0,548	0,342	160,2
112	0,635	0,596	0,616	0,342	180,0

Anexo 2. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bovis* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	Densidade Ótica de cada amostra em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
113	0,723	0,748	0,736	0,342	215,1
114	0,720	0,732	0,726	0,342	212,3
115	0,591	0,598	0,595	0,342	173,8
116	0,604	0,610	0,607	0,342	177,5
117	0,628	0,597	0,613	0,342	179,1
118	0,692	0,684	0,688	0,342	201,2
119	0,741	0,785	0,763	0,342	223,1
120	0,712	0,736	0,724	0,342	211,7
121	0,765	0,736	0,751	0,342	219,4
122	0,636	0,645	0,641	0,342	187,3
123	0,370	0,349	0,360	0,342	105,1
124	0,785	0,820	0,803	0,342	234,6
125	0,613	0,623	0,618	0,342	180,7
126	0,693	0,724	0,709	0,342	207,2
127	0,496	0,516	0,506	0,342	148,0
128	0,726	0,747	0,737	0,342	215,4
129	0,518	0,521	0,520	0,342	151,9
130	0,698	0,678	0,688	0,342	201,2
131	0,735	0,736	0,736	0,342	215,1
132	0,605	0,622	0,614	0,342	179,4
133	0,782	0,783	0,783	0,342	228,8
134	0,665	0,671	0,668	0,342	195,3
135	0,661	0,694	0,678	0,342	198,1
136	0,470	0,473	0,472	0,342	137,9
137	0,821	0,839	0,830	0,342	242,7
138	0,884	0,909	0,897	0,342	262,1
139	1,268	1,139	1,204	0,434	277,3
140	0,720	0,710	0,715	0,434	164,7
141	0,745	0,692	0,719	0,434	165,6
142	0,960	0,982	0,971	0,434	223,7
143	0,864	0,914	0,889	0,434	204,8
144	0,853	0,850	0,852	0,434	196,2
145	1,133	1,099	1,116	0,434	257,1
146	0,867	0,855	0,861	0,434	198,4
147	0,895	0,837	0,866	0,434	199,5
148	0,784	0,767	0,776	0,434	178,7
149	0,987	1,050	1,019	0,434	234,7
150	1,029	1,008	1,019	0,434	234,7
151	0,835	0,830	0,833	0,434	191,8
152	1,180	1,331	1,256	0,434	289,3
153	1,178	1,144	1,161	0,434	267,5
154	0,996	1,009	1,003	0,434	231,0
155	0,885	0,936	0,911	0,434	209,8
156	1,006	0,988	0,997	0,434	229,7
157	0,799	0,802	0,801	0,434	184,4
158	0,982	1,012	0,997	0,434	229,7
159	1,126	1,059	1,093	0,434	251,7
160	0,925	0,937	0,931	0,434	214,5
161	0,918	0,960	0,939	0,434	216,4
162	0,989	0,982	0,986	0,434	227,1
163	0,947	0,971	0,959	0,434	221,0
164	0,849	0,933	0,891	0,434	205,3
165	0,950	0,926	0,938	0,434	216,1
166	0,813	0,881	0,847	0,434	195,2
167	0,661	0,701	0,681	0,434	156,9
168	0,926	0,940	0,933	0,434	215,0

Anexo 2. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bovis* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	Densidade Ótica de cada amostra em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
169	1,150	1,083	1,117	0,434	257,3
170	0,867	0,903	0,885	0,434	203,9
171	0,958	0,883	0,921	0,434	212,1
172	1,088	1,114	1,101	0,434	253,7
173	0,892	0,820	0,856	0,434	197,2
174	0,831	0,866	0,849	0,438	193,7
175	1,177	1,124	1,151	0,438	262,7
176	0,916	0,887	0,902	0,438	205,8
177	1,105	1,114	1,110	0,438	253,3
178	0,863	0,864	0,864	0,438	197,1
179	1,090	1,091	1,091	0,438	249,0
180	0,884	0,909	0,897	0,438	204,7
181	1,363	1,279	1,321	0,438	301,6
182	1,036	0,981	1,009	0,438	230,3
183	0,532	0,539	0,536	0,438	122,3
184	0,576	0,637	0,607	0,438	138,5
185	0,530	0,520	0,525	0,438	119,9
186	0,564	0,571	0,568	0,438	129,6
187	0,532	0,568	0,550	0,438	125,6
188	0,838	0,830	0,834	0,438	190,4
189	0,497	0,489	0,493	0,438	112,6
190	0,461	0,486	0,474	0,438	108,1
191	0,948	0,829	0,889	0,438	202,9
192	0,552	0,555	0,554	0,438	126,4
193	0,325	0,315	0,320	0,438	73,1
194	0,418	0,385	0,402	0,438	91,7
195	0,530	0,520	0,525	0,438	119,9
196	0,788	0,850	0,819	0,438	187,0
197	0,804	0,805	0,805	0,438	183,7
198	0,462	0,473	0,468	0,438	106,7
199	0,476	0,462	0,469	0,438	107,1
200	0,801	0,817	0,809	0,438	184,7
201	0,970	1,008	0,989	0,438	225,8
202	0,819	0,930	0,875	0,438	199,7
203	0,734	0,684	0,709	0,438	161,9
204	0,557	0,557	0,557	0,438	127,2
205	0,875	0,884	0,880	0,438	200,8
206	0,671	0,674	0,673	0,438	153,5
207	0,906	0,940	0,923	0,438	210,7
208	0,478	0,482	0,480	0,438	109,6
209	0,603	0,602	0,603	0,371	162,4
210	0,603	0,704	0,654	0,371	176,1
211	0,674	0,667	0,671	0,371	180,7
212	0,423	0,425	0,424	0,371	114,3
213	0,520	0,496	0,508	0,371	136,9
214	0,617	0,566	0,592	0,371	159,4
215	0,430	0,446	0,438	0,371	118,1
216	0,499	0,485	0,492	0,371	132,6
217	0,567	0,552	0,560	0,371	150,8
218	0,478	0,460	0,469	0,371	126,4
219	0,808	0,810	0,809	0,371	218,1
220	0,455	0,415	0,435	0,371	117,3
221	0,655	0,665	0,660	0,371	177,9
222	0,499	0,473	0,486	0,371	131,0
223	0,594	0,607	0,601	0,371	161,9
224	0,579	0,564	0,572	0,371	154,0

Anexo 2. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Babesia bovis* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	Densidade Ótica de cada amostra em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
225	0,653	0,679	0,666	0,371	179,5
226	0,854	0,810	0,832	0,371	224,3
227	0,630	0,613	0,622	0,371	167,5
228	0,576	0,543	0,560	0,371	150,8
229	0,536	0,540	0,538	0,371	145,0
230	0,597	0,602	0,600	0,371	161,6
231	0,677	0,654	0,666	0,371	179,4
232	0,486	0,700	0,593	0,371	159,8
233	0,652	0,643	0,648	0,371	174,5
234	0,259	0,262	0,261	0,371	70,2
235	0,554	0,535	0,545	0,371	146,8
236	0,452	0,434	0,443	0,371	119,4
237	0,629	0,625	0,627	0,371	169,0
238	0,572	0,565	0,569	0,371	153,2
239	0,823	0,744	0,784	0,371	211,2
240	0,490	0,427	0,459	0,371	123,6
241	0,780	0,781	0,781	0,371	210,4
242	0,568	0,546	0,557	0,371	150,1
243	0,558	0,568	0,563	0,371	151,8
244	0,423	0,449	0,436	0,366	119,1
245	0,672	0,642	0,657	0,366	179,5
246	0,672	0,422	0,547	0,366	149,5

Anexo 3. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Anaplasma marginale* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
1	0,385	0,391	0,388	0,364	106,6
2	0,482	0,517	0,500	0,364	137,2
3	0,400	0,398	0,399	0,364	109,6
4	0,347	0,363	0,355	0,364	97,5
5	0,317	0,329	0,323	0,364	88,7
6	0,507	0,411	0,459	0,364	126,1
7	0,326	0,343	0,335	0,364	91,9
8	0,404	0,444	0,424	0,364	116,5
9	0,520	0,543	0,532	0,364	146,0
10	0,373	0,382	0,378	0,364	103,7
11	0,322	0,320	0,321	0,364	88,2
12	0,447	0,412	0,430	0,364	118,0
13	0,465	0,463	0,464	0,364	127,5
14	0,474	0,515	0,495	0,364	135,9
15	0,521	0,528	0,525	0,364	144,1
16	0,263	0,269	0,266	0,364	73,1
17	0,514	0,531	0,523	0,364	143,5
18	0,587	0,525	0,556	0,364	152,7
19	0,451	0,607	0,529	0,364	145,3
20	0,383	0,366	0,375	0,364	102,9
21	0,163	0,163	0,163	0,364	44,8
22	0,522	0,550	0,536	0,364	147,3
23	0,353	0,333	0,343	0,364	94,2
24	0,324	0,341	0,333	0,364	91,3
25	0,525	0,580	0,553	0,364	151,8
26	0,555	0,549	0,552	0,364	151,6
27	0,511	0,523	0,517	0,364	142,0
28	0,343	0,372	0,358	0,364	98,2
29	0,332	0,331	0,332	0,364	91,1
30	0,445	0,450	0,448	0,364	122,9
31	0,309	0,333	0,321	0,364	88,2
32	0,482	0,462	0,472	0,364	129,7
33	0,441	0,457	0,449	0,364	123,4
34	0,370	0,363	0,367	0,381	96,2
35	0,384	0,381	0,383	0,381	100,4
36	0,661	0,655	0,658	0,381	172,7
37	0,171	0,171	0,171	0,381	44,9
38	0,492	0,514	0,503	0,381	132,0
39	0,639	0,609	0,624	0,381	163,8
40	0,583	0,563	0,573	0,381	150,4
41	0,418	0,423	0,421	0,381	110,4
42	0,493	0,489	0,491	0,381	128,9
43	0,735	0,751	0,743	0,381	195,0
44	0,280	0,279	0,280	0,381	73,4
45	0,455	0,404	0,430	0,381	112,7
46	0,377	0,371	0,374	0,381	98,2
47	0,265	0,268	0,267	0,381	69,9
48	0,476	0,478	0,477	0,381	125,2
49	0,647	0,649	0,648	0,381	170,1
50	0,465	0,473	0,469	0,381	123,1
51	0,593	0,571	0,582	0,381	152,8
52	0,626	0,575	0,601	0,381	157,6
53	0,555	0,550	0,553	0,381	145,0
54	0,807	0,798	0,803	0,381	210,6
55	0,517	0,532	0,525	0,381	137,7
56	0,155	0,165	0,160	0,381	42,0

Anexo 3. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Anaplasma marginale* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
57	0,892	0,867	0,880	0,381	230,8
58	0,536	0,528	0,532	0,381	139,6
59	0,697	0,699	0,698	0,381	183,2
60	0,486	0,468	0,477	0,381	125,2
61	0,424	0,451	0,438	0,381	114,8
62	0,611	0,651	0,631	0,381	165,6
63	0,501	0,460	0,481	0,381	126,1
64	0,626	0,601	0,614	0,381	161,0
65	0,401	0,398	0,400	0,381	104,9
66	0,545	0,552	0,549	0,381	144,0
67	0,553	0,540	0,547	0,381	143,4
68	0,404	0,410	0,407	0,381	106,8
69	0,300	0,309	0,305	0,281	108,4
70	0,320	0,330	0,325	0,281	115,7
71	0,201	0,189	0,195	0,281	69,4
72	0,242	0,238	0,240	0,281	85,4
73	0,302	0,329	0,316	0,281	112,3
74	0,386	0,353	0,370	0,281	131,5
75	0,336	0,341	0,339	0,281	120,5
76	0,386	0,395	0,391	0,281	139,0
77	0,248	0,241	0,245	0,281	87,0
78	0,374	0,368	0,371	0,281	132,0
79	0,243	0,270	0,257	0,281	91,3
80	0,274	0,251	0,263	0,281	93,4
81	0,307	0,299	0,303	0,281	107,8
82	0,170	0,156	0,163	0,281	58,0
83	0,408	0,433	0,421	0,281	149,6
84	0,329	0,329	0,329	0,281	117,1
85	0,312	0,322	0,317	0,281	112,8
86	0,234	0,224	0,229	0,281	81,5
87	0,570	0,563	0,567	0,281	201,6
88	0,267	0,257	0,262	0,281	93,2
89	0,148	0,143	0,146	0,281	51,8
90	0,498	0,493	0,496	0,281	176,3
91	0,220	0,236	0,228	0,281	81,1
92	0,255	0,231	0,243	0,281	86,5
93	0,318	0,341	0,330	0,281	117,3
94	0,171	0,168	0,170	0,281	60,3
95	0,337	0,324	0,331	0,281	117,6
96	0,297	0,312	0,305	0,281	108,4
97	0,242	0,259	0,251	0,281	89,1
98	0,368	0,361	0,365	0,281	129,7
99	0,228	0,227	0,228	0,281	81,0
100	0,415	0,395	0,405	0,281	144,1
101	0,324	0,327	0,326	0,281	115,8
102	0,307	0,335	0,321	0,281	114,2
103	0,278	0,289	0,284	0,281	100,9
104	0,323	0,303	0,313	0,287	109,1
105	0,253	0,249	0,251	0,287	87,5
106	0,294	0,300	0,297	0,287	103,5
107	0,241	0,248	0,245	0,287	85,2
108	0,240	0,254	0,247	0,287	86,1
109	0,252	0,240	0,246	0,287	85,7
110	0,342	0,341	0,342	0,287	119,0
111	0,249	0,247	0,248	0,287	86,4
112	0,217	0,224	0,221	0,287	76,8

Anexo 3. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Anaplasma marginale* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
113	0,318	0,321	0,320	0,287	111,3
114	0,295	0,313	0,304	0,287	105,9
115	0,222	0,215	0,219	0,287	76,1
116	0,266	0,260	0,263	0,287	91,6
117	0,238	0,235	0,237	0,287	82,4
118	0,259	0,254	0,257	0,287	89,4
119	0,338	0,344	0,341	0,287	118,8
120	0,343	0,350	0,347	0,287	120,7
121	0,307	0,290	0,299	0,287	104,0
122	0,320	0,315	0,318	0,287	110,6
123	0,134	0,132	0,133	0,287	46,3
124	0,362	0,345	0,354	0,287	123,2
125	0,331	0,344	0,338	0,287	117,6
126	0,283	0,306	0,295	0,287	102,6
127	0,252	0,233	0,243	0,287	84,5
128	0,206	0,204	0,205	0,287	71,4
129	0,333	0,350	0,342	0,287	119,0
130	0,263	0,263	0,263	0,287	91,6
131	0,317	0,321	0,319	0,287	111,1
132	0,315	0,342	0,329	0,287	114,5
133	0,218	0,209	0,214	0,287	74,4
134	0,195	0,208	0,202	0,287	70,2
135	0,245	0,244	0,245	0,287	85,2
136	0,210	0,214	0,212	0,287	73,9
137	0,247	0,259	0,253	0,287	88,2
138	0,464	0,476	0,470	0,287	163,8
139	0,595	0,639	0,617	0,454	135,9
140	0,513	0,570	0,542	0,454	119,3
141	0,499	0,515	0,507	0,454	111,7
142	0,535	0,516	0,526	0,454	115,7
143	0,494	0,502	0,498	0,454	109,7
144	0,477	0,460	0,469	0,454	103,2
145	0,563	0,581	0,572	0,454	126,0
146	0,442	0,491	0,467	0,454	102,8
147	0,450	0,467	0,459	0,454	101,0
148	0,651	0,688	0,670	0,454	147,5
149	0,523	0,508	0,516	0,454	113,5
150	0,474	0,466	0,470	0,454	103,5
151	0,573	0,562	0,568	0,454	125,0
152	0,528	0,550	0,539	0,454	118,7
153	0,507	0,503	0,505	0,454	111,2
154	0,600	0,573	0,587	0,454	129,2
155	0,649	0,673	0,661	0,454	145,6
156	0,478	0,455	0,467	0,454	102,8
157	0,473	0,488	0,481	0,454	105,8
158	0,615	0,646	0,631	0,454	138,9
159	0,497	0,483	0,490	0,454	107,9
160	0,461	0,450	0,456	0,454	100,3
161	0,378	0,375	0,377	0,454	82,9
162	0,539	0,546	0,543	0,454	119,5
163	0,603	0,639	0,621	0,454	136,8
164	0,443	0,462	0,453	0,454	99,7
165	0,536	0,515	0,526	0,454	115,7
166	0,353	0,343	0,348	0,454	76,7
167	0,395	0,381	0,388	0,454	85,5
168	0,530	0,492	0,511	0,454	112,6

Anexo 3. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Anaplasma marginale* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
169	0,524	0,525	0,525	0,454	115,5
170	0,407	0,431	0,419	0,454	92,3
171	0,505	0,546	0,526	0,454	115,7
172	0,447	0,468	0,458	0,454	100,8
173	0,467	0,478	0,473	0,454	104,1
174	0,387	0,384	0,386	0,418	92,2
175	0,465	0,478	0,472	0,418	112,8
176	0,691	0,614	0,653	0,418	156,1
177	0,598	0,538	0,568	0,418	135,9
178	0,642	0,649	0,646	0,418	154,4
179	0,774	0,717	0,746	0,418	178,3
180	0,491	0,516	0,504	0,418	120,5
181	0,756	0,754	0,755	0,418	180,6
182	0,453	0,439	0,446	0,418	106,7
183	0,413	0,450	0,432	0,418	103,2
184	0,541	0,555	0,548	0,418	131,1
185	0,349	0,319	0,334	0,418	79,9
186	0,375	0,390	0,383	0,418	91,5
187	0,503	0,498	0,501	0,418	119,7
188	0,624	0,604	0,614	0,418	146,9
189	0,118	0,126	0,122	0,418	29,2
190	0,358	0,379	0,369	0,418	88,2
191	0,503	0,485	0,494	0,418	118,2
192	0,299	0,329	0,314	0,418	75,1
193	0,317	0,320	0,319	0,418	76,2
194	0,364	0,379	0,372	0,418	88,9
195	0,429	0,412	0,421	0,418	100,6
196	0,749	0,764	0,757	0,418	181,0
197	0,399	0,375	0,387	0,418	92,6
198	0,359	0,348	0,354	0,418	84,6
199	0,318	0,321	0,320	0,418	76,4
200	0,357	0,355	0,356	0,418	85,2
201	0,502	0,489	0,496	0,418	118,5
202	0,641	0,670	0,656	0,418	156,8
203	0,548	0,555	0,552	0,418	131,9
204	0,557	0,530	0,544	0,418	130,0
205	0,622	0,581	0,602	0,418	143,9
206	0,721	0,734	0,728	0,418	174,0
207	0,583	0,600	0,592	0,418	141,5
208	0,349	0,360	0,355	0,418	84,8
209	0,435	0,472	0,454	0,342	132,6
210	0,357	0,364	0,361	0,342	105,4
211	0,525	0,493	0,509	0,342	148,8
212	0,292	0,280	0,286	0,342	83,6
213	0,347	0,345	0,346	0,342	101,2
214	0,359	0,394	0,377	0,342	110,1
215	0,364	0,359	0,362	0,342	105,7
216	0,355	0,388	0,372	0,342	108,6
217	0,396	0,437	0,417	0,342	121,8
218	0,399	0,410	0,405	0,342	118,3
219	0,384	0,375	0,380	0,342	111,0
220	0,222	0,248	0,235	0,342	68,7
221	0,519	0,558	0,539	0,342	157,5
222	0,360	0,367	0,364	0,342	106,3
223	0,368	0,350	0,359	0,342	105,0
224	0,358	0,342	0,350	0,342	102,3

Anexo 3. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Anaplasma marginale* de bovinos dos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - Estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
225	0,376	0,350	0,363	0,342	106,1
226	0,428	0,419	0,424	0,342	123,8
227	0,405	0,400	0,403	0,342	117,7
228	0,345	0,348	0,347	0,342	101,3
229	0,351	0,347	0,349	0,342	102,0
230	0,321	0,328	0,325	0,342	94,9
231	0,375	0,375	0,375	0,342	109,6
232	0,479	0,446	0,463	0,342	135,2
233	0,398	0,436	0,417	0,342	121,9
234	0,176	0,159	0,168	0,342	49,0
235	0,297	0,312	0,305	0,342	89,0
236	0,285	0,265	0,275	0,342	80,4
237	0,314	0,324	0,319	0,342	93,3
238	0,410	0,394	0,402	0,342	117,5
239	0,364	0,348	0,356	0,342	104,1
240	0,374	0,358	0,366	0,342	107,0
241	0,410	0,399	0,405	0,342	118,3
242	0,444	0,434	0,439	0,342	128,4
243	0,298	0,304	0,301	0,342	88,0
244	0,179	0,188	0,184	0,357	51,4
245	0,323	0,334	0,329	0,357	92,0
246	0,454	0,437	0,446	0,357	124,8

Anexo 4. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Trypanosoma vivax* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
1	0,529	0,507	0,518	0,330	157,0
2	0,569	0,573	0,571	0,330	173,0
3	0,500	0,522	0,511	0,330	154,8
4	0,481	0,522	0,502	0,330	152,0
5	0,478	0,492	0,485	0,330	147,0
6	0,555	0,549	0,552	0,330	167,3
7	0,509	0,522	0,516	0,330	156,2
8	0,463	0,453	0,458	0,330	138,8
9	0,514	0,510	0,512	0,330	155,2
10	0,629	0,646	0,638	0,330	193,2
11	0,430	0,461	0,446	0,330	135,0
12	0,562	0,560	0,561	0,330	170,0
13	0,524	0,524	0,524	0,330	158,8
14	0,502	0,501	0,502	0,330	152,0
15	0,651	0,656	0,654	0,330	198,0
16	0,290	0,306	0,298	0,330	90,3
17	0,571	0,549	0,560	0,330	169,7
18	0,599	0,619	0,609	0,330	184,5
19	0,534	0,535	0,535	0,330	162,0
20	0,494	0,470	0,482	0,330	146,1
21	0,327	0,351	0,339	0,330	102,7
22	0,624	0,635	0,630	0,330	190,8
23	0,518	0,524	0,521	0,330	157,9
24	0,564	0,512	0,538	0,330	163,0
25	0,539	0,531	0,535	0,330	162,1
26	0,757	0,678	0,718	0,330	217,4
27	0,607	0,670	0,639	0,330	193,5
28	0,477	0,491	0,484	0,330	146,7
29	0,455	0,472	0,464	0,330	140,5
30	0,600	0,612	0,606	0,330	183,6
31	0,476	0,448	0,462	0,330	140,0
32	0,372	0,392	0,382	0,330	115,8
33	0,611	0,610	0,611	0,330	185,0
34	0,817	0,799	0,808	0,478	169,0
35	0,645	0,636	0,641	0,478	134,0
36	0,837	0,814	0,826	0,478	172,7
37	0,496	0,482	0,489	0,478	102,3
38	0,912	0,899	0,906	0,478	189,4
39	0,875	0,798	0,837	0,478	175,0
40	0,902	0,853	0,878	0,478	183,6
41	0,676	0,704	0,690	0,478	144,4
42	0,879	0,905	0,892	0,478	186,6
43	0,990	1,047	1,019	0,478	213,1
44	0,706	0,681	0,694	0,478	145,1
45	0,907	0,928	0,918	0,478	191,9
46	0,619	0,597	0,608	0,478	127,2
47	0,380	0,379	0,380	0,478	79,4
48	0,811	0,804	0,808	0,478	168,9
49	0,921	0,912	0,917	0,478	191,7
50	0,733	0,815	0,774	0,478	161,9
51	0,883	0,857	0,870	0,478	182,0
52	0,895	0,875	0,885	0,478	185,1
53	0,838	0,798	0,818	0,478	171,1
54	0,900	0,927	0,914	0,478	191,1
55	0,738	0,812	0,775	0,478	162,1
56	0,598	0,633	0,616	0,478	128,8

Anexo 4. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Trypanosoma vivax* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
57	1,227	1,136	1,182	0,478	247,2
58	0,888	0,857	0,873	0,478	182,5
59	0,911	0,894	0,903	0,478	188,8
60	0,841	0,825	0,833	0,478	174,3
61	0,860	0,995	0,928	0,478	194,0
62	0,912	0,900	0,906	0,478	189,5
63	0,923	0,882	0,903	0,478	188,8
64	0,830	0,910	0,870	0,478	182,0
65	0,603	0,597	0,600	0,478	125,5
66	0,866	0,852	0,859	0,478	179,7
67	0,782	0,858	0,820	0,478	171,5
68	0,705	0,707	0,706	0,478	147,7
69	0,504	0,476	0,490	0,325	150,8
70	0,402	0,454	0,428	0,325	131,7
71	0,315	0,323	0,319	0,325	98,2
72	0,635	0,657	0,646	0,325	198,8
73	0,474	0,510	0,492	0,325	151,4
74	0,550	0,493	0,522	0,325	160,5
75	0,460	0,445	0,453	0,325	139,2
76	0,529	0,568	0,549	0,325	168,8
77	0,468	0,468	0,468	0,325	144,0
78	0,511	0,531	0,521	0,325	160,3
79	0,358	0,394	0,376	0,325	115,7
80	0,470	0,511	0,491	0,325	150,9
81	0,453	0,431	0,442	0,325	136,0
82	0,267	0,261	0,264	0,325	81,2
83	0,720	0,741	0,731	0,325	224,8
84	0,527	0,512	0,520	0,325	159,8
85	0,776	0,782	0,779	0,325	239,7
86	0,398	0,381	0,390	0,325	119,8
87	0,992	0,936	0,964	0,325	296,6
88	0,398	0,421	0,410	0,325	126,0
89	0,330	0,330	0,330	0,325	101,5
90	0,895	0,871	0,883	0,325	271,7
91	0,452	0,417	0,435	0,325	133,7
92	0,503	0,473	0,488	0,325	150,2
93	0,518	0,532	0,525	0,325	161,5
94	0,254	0,263	0,259	0,325	79,5
95	0,510	0,491	0,501	0,325	154,0
96	0,409	0,406	0,408	0,325	125,4
97	0,490	0,458	0,474	0,325	145,8
98	0,512	0,543	0,528	0,325	162,3
99	0,344	0,351	0,348	0,325	106,9
100	0,468	0,496	0,482	0,325	148,3
101	0,418	0,426	0,422	0,325	129,8
102	0,438	0,429	0,434	0,325	133,4
103	0,480	0,455	0,468	0,325	143,8
104	0,462	0,444	0,453	0,315	143,8
105	0,457	0,485	0,471	0,315	149,5
106	0,411	0,401	0,406	0,315	128,9
107	0,474	0,423	0,449	0,315	142,4
108	0,419	0,424	0,422	0,315	133,8
109	0,384	0,355	0,370	0,315	117,3
110	0,396	0,475	0,436	0,315	138,3
111	0,355	0,374	0,365	0,315	115,7
112	0,655	0,409	0,532	0,315	168,9

Anexo 4. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Trypanosoma vivax* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
113	0,466	0,477	0,472	0,315	149,7
114	0,446	0,413	0,430	0,315	136,3
115	0,362	0,313	0,338	0,315	107,1
116	0,375	0,382	0,379	0,315	120,2
117	0,388	0,394	0,391	0,315	124,1
118	0,394	0,423	0,409	0,315	129,7
119	0,587	0,568	0,578	0,315	183,3
120	0,523	0,519	0,521	0,315	165,4
121	0,439	0,379	0,409	0,315	129,8
122	0,389	0,432	0,411	0,315	130,3
123	0,271	0,270	0,271	0,315	85,9
124	0,607	0,567	0,587	0,315	186,3
125	0,419	0,394	0,407	0,315	129,0
126	0,460	0,502	0,481	0,315	152,7
127	0,411	0,384	0,398	0,315	126,2
128	0,482	0,521	0,502	0,315	159,2
129	0,435	0,439	0,437	0,315	138,7
130	0,430	0,476	0,453	0,315	143,8
131	0,341	0,324	0,333	0,315	105,6
132	0,452	0,450	0,451	0,315	143,2
133	0,403	0,386	0,395	0,315	125,2
134	0,360	0,415	0,388	0,315	123,0
135	0,369	0,354	0,362	0,315	114,8
136	0,383	0,387	0,385	0,315	122,2
137	0,437	0,381	0,409	0,315	129,8
138	0,556	0,585	0,571	0,315	181,1
139	0,618	0,619	0,619	0,312	198,2
140	0,385	0,394	0,390	0,312	124,8
141	0,390	0,351	0,371	0,312	118,8
142	0,495	0,511	0,503	0,312	161,2
143	0,435	0,415	0,425	0,312	136,2
144	0,548	0,524	0,536	0,312	171,8
145	0,504	0,483	0,494	0,312	158,2
146	0,433	0,450	0,442	0,312	141,5
147	0,428	0,438	0,433	0,312	138,8
148	0,549	0,557	0,553	0,312	177,2
149	0,449	0,477	0,463	0,312	148,4
150	0,485	0,450	0,468	0,312	149,8
151	0,462	0,457	0,460	0,312	147,3
152	0,535	0,559	0,547	0,312	175,3
153	0,387	0,406	0,397	0,312	127,1
154	0,439	0,462	0,451	0,312	144,4
155	0,438	0,439	0,439	0,312	140,5
156	0,526	0,539	0,533	0,312	170,7
157	0,424	0,413	0,419	0,312	134,1
158	0,450	0,455	0,453	0,312	145,0
159	0,403	0,413	0,408	0,312	130,8
160	0,478	0,456	0,467	0,312	149,7
161	0,403	0,412	0,408	0,312	130,6
162	0,468	0,443	0,456	0,312	146,0
163	0,483	0,472	0,478	0,312	153,0
164	0,388	0,390	0,389	0,312	124,7
165	0,476	0,480	0,478	0,312	153,2
166	0,471	0,526	0,499	0,312	159,8
167	0,425	0,425	0,425	0,312	136,2
168	0,414	0,422	0,418	0,312	134,0

Anexo 4. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Trypanosoma vivax* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
169	0,416	0,420	0,418	0,312	134,0
170	0,494	0,453	0,474	0,312	151,8
171	0,421	0,452	0,437	0,356	122,6
172	0,380	0,401	0,391	0,356	109,7
173	0,446	0,434	0,440	0,356	123,6
174	0,484	0,518	0,501	0,356	140,7
175	0,680	0,697	0,689	0,356	193,4
176	0,622	0,640	0,631	0,356	177,2
177	0,539	0,554	0,547	0,356	153,5
178	0,586	0,588	0,587	0,356	164,9
179	0,748	0,732	0,740	0,356	207,9
180	0,470	0,515	0,493	0,356	138,3
181	0,796	0,825	0,811	0,356	227,7
182	0,397	0,382	0,390	0,356	109,4
183	0,407	0,392	0,400	0,356	112,2
184	0,394	0,407	0,401	0,356	112,5
185	0,332	0,314	0,323	0,356	90,7
186	0,367	0,360	0,364	0,356	102,1
187	0,427	0,449	0,438	0,356	123,0
188	0,480	0,510	0,495	0,356	139,0
189	0,288	0,296	0,292	0,356	82,0
190	0,361	0,401	0,381	0,356	107,0
191	0,360	0,360	0,360	0,356	101,1
192	0,342	0,384	0,363	0,356	102,0
193	0,305	0,286	0,296	0,356	83,0
194	0,358	0,368	0,363	0,356	102,0
195	0,422	0,388	0,405	0,356	113,8
196	0,396	0,454	0,425	0,356	119,4
197	0,365	0,358	0,362	0,356	101,5
198	0,321	0,333	0,327	0,356	91,9
199	0,349	0,330	0,340	0,356	95,4
200	0,396	0,369	0,383	0,356	107,4
201	0,352	0,394	0,373	0,356	104,8
202	0,402	0,416	0,409	0,356	114,9
203	0,463	0,414	0,439	0,356	123,2
204	0,408	0,388	0,398	0,356	111,8
205	0,459	0,428	0,444	0,356	124,6
206	0,485	0,492	0,489	0,467	104,6
207	0,412	0,457	0,435	0,467	93,0
208	0,331	0,319	0,325	0,467	69,6
209	0,543	0,511	0,527	0,467	112,8
210	0,487	0,511	0,499	0,467	106,9
211	0,584	0,597	0,591	0,467	126,4
212	0,401	0,425	0,413	0,467	88,4
213	0,489	0,486	0,488	0,467	104,4
214	0,510	0,477	0,494	0,467	105,7
215	0,476	0,482	0,479	0,467	102,6
216	0,502	0,547	0,525	0,467	112,3
217	0,550	0,540	0,545	0,467	116,7
218	0,677	0,616	0,647	0,467	138,4
219	0,514	0,505	0,510	0,467	109,1
220	0,462	0,475	0,469	0,467	100,3
221	0,471	0,472	0,472	0,467	101,0
222	0,489	0,487	0,488	0,467	104,5
223	0,526	0,567	0,547	0,467	117,0
224	0,490	0,487	0,489	0,467	104,6

Anexo 4. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Trypanosoma vivax* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
225	0,476	0,498	0,487	0,467	104,3
226	0,552	0,539	0,546	0,467	116,8
227	0,526	0,503	0,515	0,467	110,2
228	0,440	0,501	0,471	0,467	100,7
229	0,485	0,467	0,476	0,467	101,9
230	0,522	0,485	0,504	0,467	107,8
231	0,529	0,557	0,543	0,467	116,3
232	0,588	0,538	0,563	0,467	120,6
233	0,505	0,453	0,479	0,467	102,6
234	0,300	0,379	0,340	0,467	72,7
235	0,487	0,464	0,476	0,467	101,8
236	0,511	0,488	0,500	0,467	107,0
237	0,489	0,464	0,477	0,467	102,0
238	0,488	0,493	0,491	0,467	105,0
239	0,589	0,543	0,566	0,467	121,2
240	0,503	0,545	0,524	0,467	112,2
241	0,588	0,542	0,565	0,467	121,0
242	0,573	0,532	0,553	0,467	118,3
243	0,481	0,506	0,494	0,467	105,7
244	0,179	0,184	0,182	0,308	58,9
245	0,282	0,300	0,291	0,308	94,5
246	0,333	0,335	0,334	0,308	108,4

Anexo 5. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Borrelia burgdorferi* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
1	0,458	0,456	0,457	0,305	149,8
2	0,493	0,595	0,544	0,305	178,4
3	0,396	0,400	0,398	0,305	130,5
4	0,232	0,231	0,232	0,305	75,9
5	0,310	0,295	0,303	0,305	99,2
6	0,431	0,425	0,428	0,305	140,3
7	0,374	0,382	0,378	0,305	123,9
8	0,358	0,335	0,347	0,305	113,6
9	0,402	0,397	0,400	0,305	131,0
10	0,312	0,327	0,320	0,305	104,8
11	0,227	0,191	0,209	0,305	68,5
12	0,421	0,433	0,427	0,305	140,0
13	0,334	0,349	0,342	0,305	112,0
14	0,373	0,369	0,371	0,305	121,6
15	0,425	0,441	0,433	0,305	142,0
16	0,192	0,182	0,187	0,305	61,3
17	0,291	0,285	0,288	0,305	94,4
18	0,511	0,498	0,505	0,305	165,4
19	0,320	0,309	0,315	0,305	103,1
20	0,273	0,276	0,275	0,305	90,0
21	0,283	0,263	0,273	0,305	89,5
22	0,341	0,349	0,345	0,305	113,1
23	0,437	0,421	0,429	0,305	140,7
24	0,318	0,332	0,325	0,305	106,6
25	0,331	0,319	0,325	0,305	106,6
26	0,296	0,298	0,297	0,305	97,4
27	0,493	0,510	0,502	0,305	164,4
28	0,250	0,231	0,241	0,305	78,9
29	0,331	0,349	0,340	0,305	111,5
30	0,291	0,277	0,284	0,305	93,1
31	0,205	0,211	0,208	0,305	68,2
32	0,278	0,288	0,283	0,305	92,8
33	0,292	0,259	0,276	0,305	90,3
34	0,581	0,607	0,594	0,305	194,8
35	0,443	0,428	0,436	0,305	142,8
36	0,317	0,292	0,305	0,305	99,8
37	0,206	0,205	0,206	0,305	67,4
38	0,219	0,217	0,218	0,305	71,5
39	0,624	0,638	0,631	0,305	206,9
40	0,664	0,697	0,681	0,305	223,1
41	0,505	0,469	0,487	0,305	159,7
42	0,317	0,300	0,309	0,305	101,1
43	0,254	0,247	0,251	0,305	82,1
44	0,190	0,199	0,195	0,305	63,8
45	0,681	0,679	0,680	0,305	223,0
46	0,600	0,582	0,591	0,305	193,8
47	0,535	0,540	0,538	0,305	176,2
48	0,392	0,370	0,381	0,305	124,9
49	0,389	0,376	0,383	0,305	125,4
50	0,251	0,225	0,238	0,305	78,0
51	0,467	0,466	0,467	0,305	153,0
52	0,597	0,627	0,612	0,305	200,7
53	0,599	0,568	0,584	0,305	191,3
54	0,314	0,334	0,324	0,305	106,2
55	0,226	0,212	0,219	0,305	71,8
56	0,231	0,222	0,227	0,305	74,3

Anexo 5. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Borrelia burgdorferi* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
57	0,751	0,770	0,761	0,305	249,3
58	0,694	0,669	0,682	0,305	223,4
59	0,415	0,391	0,403	0,305	132,1
60	0,259	0,245	0,252	0,305	82,6
61	0,280	0,280	0,280	0,305	91,8
62	0,258	0,227	0,243	0,305	79,5
63	0,375	0,354	0,365	0,305	119,5
64	0,466	0,452	0,459	0,305	150,5
65	0,279	0,257	0,268	0,305	87,9
66	0,229	0,247	0,238	0,305	78,0
67	0,268	0,236	0,252	0,305	82,6
68	0,227	0,251	0,239	0,305	78,4
69	0,595	0,558	0,577	0,516	111,7
70	0,759	0,755	0,757	0,516	146,7
71	0,451	0,423	0,437	0,516	84,7
72	0,636	0,651	0,644	0,516	124,7
73	0,951	0,922	0,937	0,516	181,5
74	0,593	0,540	0,567	0,516	109,8
75	0,453	0,491	0,472	0,516	91,5
76	0,709	0,684	0,697	0,516	135,0
77	0,433	0,441	0,437	0,516	84,7
78	0,786	0,799	0,793	0,516	153,6
79	0,805	0,791	0,798	0,516	154,7
80	0,567	0,550	0,559	0,516	108,2
81	0,421	0,437	0,429	0,516	83,1
82	0,283	0,287	0,285	0,516	55,2
83	0,642	0,647	0,645	0,516	124,9
84	0,687	0,674	0,681	0,516	131,9
85	0,808	0,782	0,795	0,516	154,1
86	0,419	0,436	0,428	0,516	82,8
87	1,289	1,244	1,267	0,516	245,4
88	0,439	0,456	0,448	0,516	86,7
89	0,454	0,490	0,472	0,516	91,5
90	1,138	1,148	1,143	0,516	221,5
91	0,821	0,795	0,808	0,516	156,6
92	0,461	0,465	0,463	0,516	89,7
93	0,355	0,319	0,337	0,516	65,3
94	0,294	0,329	0,312	0,516	60,4
95	0,633	0,682	0,658	0,516	127,4
96	0,721	0,734	0,728	0,516	141,0
97	0,897	0,988	0,943	0,516	182,7
98	0,616	0,637	0,627	0,516	121,4
99	0,548	0,521	0,535	0,516	103,6
100	0,498	0,494	0,496	0,516	96,1
101	0,878	0,802	0,840	0,516	162,8
102	0,661	0,698	0,680	0,516	131,7
103	0,694	0,648	0,671	0,516	130,0
104	0,535	0,510	0,523	0,438	119,3
105	0,395	0,412	0,404	0,438	92,1
106	0,478	0,476	0,477	0,438	108,9
107	0,311	0,318	0,315	0,438	71,8
108	0,319	0,330	0,325	0,438	74,1
109	0,451	0,430	0,441	0,438	100,6
110	0,470	0,459	0,465	0,438	106,1
111	0,439	0,445	0,442	0,438	100,9
112	0,428	0,452	0,440	0,438	100,5

Anexo 5. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Borrelia burgdorferi* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
113	0,521	0,557	0,539	0,438	123,1
114	0,345	0,333	0,339	0,438	77,4
115	0,448	0,438	0,443	0,438	101,1
116	0,539	0,549	0,544	0,438	124,2
117	0,353	0,368	0,361	0,438	82,3
118	0,364	0,385	0,375	0,438	85,5
119	0,521	0,531	0,526	0,438	120,1
120	0,542	0,524	0,533	0,438	121,7
121	0,722	0,713	0,718	0,438	163,8
122	0,692	0,686	0,689	0,438	157,3
123	0,220	0,236	0,228	0,438	52,1
124	0,710	0,680	0,695	0,438	158,7
125	0,340	0,369	0,355	0,438	80,9
126	0,329	0,309	0,319	0,438	72,8
127	0,493	0,486	0,490	0,438	111,8
128	0,575	0,556	0,566	0,438	129,1
129	0,436	0,428	0,432	0,438	98,6
130	0,575	0,529	0,552	0,438	126,0
131	0,354	0,384	0,369	0,438	84,2
132	0,446	0,426	0,436	0,438	99,5
133	0,607	0,575	0,591	0,438	134,9
134	0,514	0,541	0,528	0,438	120,4
135	0,545	0,548	0,547	0,438	124,8
136	0,367	0,357	0,362	0,438	82,6
137	0,437	0,448	0,443	0,438	101,0
138	0,539	0,516	0,528	0,438	120,4
139	0,327	0,304	0,316	0,277	113,9
140	0,276	0,289	0,283	0,277	102,0
141	0,300	0,281	0,291	0,277	104,9
142	0,233	0,229	0,231	0,277	83,4
143	0,208	0,188	0,198	0,277	71,5
144	0,360	0,355	0,358	0,277	129,1
145	0,312	0,310	0,311	0,277	112,3
146	0,304	0,295	0,300	0,277	108,1
147	0,221	0,222	0,222	0,277	80,0
148	0,212	0,190	0,201	0,277	72,6
149	0,224	0,216	0,220	0,277	79,4
150	0,350	0,328	0,339	0,277	122,4
151	0,223	0,228	0,226	0,277	81,4
152	0,281	0,279	0,280	0,277	101,1
153	0,288	0,269	0,279	0,277	100,5
154	0,280	0,291	0,286	0,277	103,1
155	0,234	0,228	0,231	0,277	83,4
156	0,372	0,350	0,361	0,277	130,3
157	0,289	0,270	0,280	0,277	100,9
158	0,277	0,300	0,289	0,277	104,2
159	0,224	0,210	0,217	0,277	78,3
160	0,282	0,298	0,290	0,277	104,7
161	0,218	0,214	0,216	0,277	78,0
162	0,311	0,299	0,305	0,277	110,1
163	0,311	0,288	0,300	0,277	108,1
164	0,254	0,242	0,248	0,277	89,5
165	0,245	0,234	0,240	0,277	86,5
166	0,221	0,209	0,215	0,277	77,6
167	0,206	0,200	0,203	0,277	73,3
168	0,353	0,324	0,339	0,277	122,2

Anexo 5. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Borrelia burgdorferi* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
169	0,287	0,288	0,288	0,277	103,8
170	0,236	0,219	0,228	0,277	82,1
171	0,249	0,246	0,248	0,277	89,4
172	0,228	0,207	0,218	0,277	78,5
173	0,206	0,207	0,207	0,277	74,5
174	0,766	0,746	0,756	0,526	143,7
175	0,866	0,909	0,888	0,526	168,7
176	0,571	0,558	0,565	0,526	107,3
177	0,527	0,540	0,534	0,526	101,4
178	0,538	0,549	0,544	0,526	103,3
179	0,780	0,745	0,763	0,526	145,0
180	0,575	0,585	0,580	0,526	110,3
181	0,638	0,610	0,624	0,526	118,6
182	0,599	0,549	0,574	0,526	109,1
183	0,538	0,568	0,553	0,526	105,1
184	0,473	0,488	0,481	0,526	91,3
185	0,361	0,379	0,370	0,526	70,3
186	0,413	0,410	0,412	0,526	78,2
187	0,593	0,614	0,604	0,526	114,7
188	0,624	0,610	0,617	0,526	117,3
189	0,436	0,464	0,450	0,526	85,6
190	0,432	0,450	0,441	0,526	83,8
191	0,421	0,401	0,411	0,526	78,1
192	0,644	0,638	0,641	0,526	121,9
193	0,377	0,369	0,373	0,526	70,9
194	0,422	0,407	0,415	0,526	78,8
195	0,200	0,177	0,189	0,526	35,8
196	0,368	0,356	0,362	0,526	68,8
197	0,400	0,369	0,385	0,526	73,1
198	0,695	0,659	0,677	0,526	128,7
199	0,356	0,337	0,347	0,526	65,9
200	0,471	0,461	0,466	0,526	88,6
201	0,448	0,478	0,463	0,526	88,0
202	0,664	0,625	0,645	0,526	122,5
203	0,405	0,378	0,392	0,526	74,4
204	0,539	0,540	0,540	0,526	102,6
205	0,560	0,488	0,524	0,526	99,6
206	0,472	0,436	0,454	0,526	86,3
207	0,419	0,433	0,426	0,526	81,0
208	0,364	0,394	0,379	0,526	72,1
209	0,447	0,417	0,432	0,503	85,9
210	0,577	0,549	0,563	0,503	111,9
211	0,593	0,585	0,589	0,503	117,1
212	0,432	0,400	0,416	0,503	82,7
213	0,377	0,356	0,367	0,503	72,9
214	0,371	0,372	0,372	0,503	73,9
215	0,485	0,455	0,470	0,503	93,4
216	0,412	0,391	0,402	0,503	79,8
217	0,381	0,369	0,375	0,503	74,6
218	0,442	0,421	0,432	0,503	85,8
219	0,475	0,437	0,456	0,503	90,7
220	0,374	0,359	0,367	0,503	72,9
221	0,731	0,699	0,715	0,503	142,1
222	0,468	0,458	0,463	0,503	92,0
223	0,574	0,581	0,578	0,503	114,8
224	0,573	0,556	0,565	0,503	112,2

Anexo 5. Cálculo para obtenção dos valores das densidades óticas, em percentual, dos soros teste em relação ao “cut-off” de cada placa para *Borrelia burgdorferi* de bovinos dos municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá (n=246) - estado do Pará.

n	D O das amostras em duplicata		Média das D.O. (MDO)	"Cut-off" da placa	MDO x 100/"cut-off"
225	0,411	0,384	0,398	0,503	79,0
226	0,359	0,345	0,352	0,503	70,0
227	0,653	0,638	0,646	0,503	128,3
228	0,635	0,648	0,642	0,503	127,5
229	0,556	0,544	0,550	0,503	109,3
230	0,416	0,409	0,413	0,503	82,0
231	0,425	0,387	0,406	0,503	80,7
232	0,342	0,333	0,338	0,503	67,1
233	0,577	0,541	0,559	0,503	111,1
234	0,288	0,283	0,286	0,503	56,8
235	0,475	0,479	0,477	0,503	94,8
236	0,510	0,504	0,507	0,503	100,8
237	0,411	0,385	0,398	0,503	79,1
238	0,361	0,381	0,371	0,503	73,8
239	0,548	0,566	0,557	0,503	110,7
240	0,500	0,516	0,508	0,503	101,0
241	0,505	0,524	0,515	0,503	102,3
242	0,389	0,413	0,401	0,503	79,7
243	0,505	0,515	0,510	0,503	101,4
244	0,291	0,302	0,297	0,290	102,2
245	0,296	0,315	0,306	0,290	105,3
246	0,215	0,213	0,214	0,290	73,8

Anexo 6. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* de bovinos município de São Miguel do Guamá (n=181) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.

SOROS	<i>Babesia bigemina</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Trypanosoma vivax</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
1	407,1	237,3	106,6	157,0	149,8
2	366,2	210,4	137,2	173,0	178,4
3	358,0	209,0	109,6	154,8	130,5
4	323,1	231,4	97,5	152,0	75,9
5	344,5	242,0	88,7	147,0	99,2
6	364,3	285,4	126,1	167,3	140,3
7	328,8	242,9	91,9	156,2	123,9
8	319,0	226,2	116,5	138,8	113,6
9	366,5	224,8	146,0	155,2	131,0
10	423,4	287,9	103,7	193,2	104,8
11	359,1	170,9	88,2	135,0	68,5
12	326,9	222,4	118,0	170,0	140,0
13	350,8	245,7	127,5	158,8	112,0
14	434,1	268,6	135,9	152,0	121,6
15	430,2	255,3	144,1	198,0	142,0
16	202,2	131,9	73,1	90,3	61,3
17	446,7	235,0	143,5	169,7	94,4
18	471,4	292,4	152,7	184,5	165,4
19	316,5	205,3	145,3	162,0	103,1
20	333,0	223,1	102,9	146,1	90,0
21	159,6	213,3	44,8	102,7	89,5
22	479,4	370,0	147,3	190,8	113,1
23	304,4	236,5	94,2	157,9	140,7
24	319,2	231,0	91,3	163,0	106,6
25	330,8	222,6	151,8	162,1	106,6
26	430,5	286,5	151,6	217,4	97,4
27	493,4	266,6	142,0	193,5	164,4
28	308,2	176,8	98,2	146,7	78,9
29	304,4	193,0	91,1	140,5	111,5
30	433,2	217,8	122,9	183,6	93,1
31	267,3	151,4	88,2	140,0	68,2
32	271,2	145,5	129,7	115,8	92,8
33	399,2	211,9	123,4	185,0	90,3
34	439,9	222,0	96,2	169,0	194,8
35	369,3	154,9	100,4	134,0	142,8
36	464,3	215,5	172,7	172,7	99,8
37	193,4	116,4	44,9	102,3	67,4
38	463,2	249,9	132,0	189,4	71,5
39	448,9	230,1	163,8	175,0	206,9
40	490,2	269,7	150,4	183,6	223,1
41	461,4	217,4	110,4	144,4	159,7
42	466,1	223,2	128,9	186,6	101,1
43	500,0	259,1	195,0	213,1	82,1
44	304,2	135,9	73,4	145,1	63,8
45	500,3	247,8	112,7	191,9	223,0
46	496,3	238,4	98,2	127,2	193,8
47	346,8	237,8	69,9	79,4	176,2
48	460,6	287,3	125,2	168,9	124,9

Anexo 6. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* de bovinos município de São Miguel do Guamá (n=181) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.

SOROS	<i>Babesia bigemina</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Trypanosoma vivax</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
49	484,1	271,9	170,1	191,7	125,4
50	340,7	205,9	123,1	161,9	78,0
51	425,4	199,1	152,8	182,0	153,0
52	491,5	209,5	157,6	185,1	200,7
53	497,9	196,2	145,0	171,1	191,3
54	512,7	260,0	210,6	191,1	106,2
55	413,5	232,2	137,7	162,1	71,8
56	120,9	123,0	42,0	128,8	74,3
57	490,2	304,1	230,8	247,2	249,3
58	487,6	227,7	139,6	182,5	223,4
59	470,9	224,2	183,2	188,8	132,1
60	365,3	187,6	125,2	174,3	82,6
61	498,9	237,7	114,8	194,0	91,8
62	441,8	186,5	165,6	189,5	79,5
63	388,9	216,2	126,1	188,8	119,5
64	485,2	250,8	161,0	182,0	150,5
65	320,9	170,5	104,9	125,5	87,9
66	446,3	220,4	144,0	179,7	78,0
67	432,0	238,2	143,4	171,5	82,6
68	361,9	161,1	106,8	147,7	78,4
69	205,0	193,7	108,4	150,8	111,7
70	180,4	179,5	115,7	131,7	146,7
71	105,3	103,9	69,4	98,2	84,7
72	124,5	121,7	85,4	198,8	124,7
73	195,5	231,0	112,3	151,4	181,5
74	241,9	221,7	131,5	160,5	109,8
75	168,0	220,4	120,5	139,2	91,5
76	245,5	237,0	139,0	168,8	135,0
77	176,1	181,7	87,0	144,0	84,7
78	208,2	193,1	132,0	160,3	153,6
79	141,8	163,8	91,3	115,7	154,7
80	167,7	226,2	93,4	150,9	108,2
81	155,3	152,7	107,8	136,0	83,1
82	139,9	168,9	58,0	81,2	55,2
83	218,9	247,9	149,6	224,8	124,9
84	185,6	199,4	117,1	159,8	131,9
85	205,7	201,0	112,8	239,7	154,1
86	138,0	148,8	81,5	119,8	82,8
87	372,7	371,0	201,6	296,6	245,4
88	173,8	188,3	93,2	126,0	86,7
89	119,1	148,7	51,8	101,5	91,5
90	295,2	308,1	176,3	271,7	221,5
91	143,8	161,7	81,1	133,7	156,6
92	161,3	197,5	86,5	150,2	89,7
93	192,7	196,3	117,3	161,5	65,3
94	107,3	168,7	60,3	79,5	60,4
95	151,4	176,3	117,6	154,0	127,4
96	150,6	171,4	108,4	125,4	141,0

Anexo 6. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* de bovinos município de São Miguel do Guamá (n=181) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.

SOROS	<i>Babesia bigemina</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Trypanosoma vivax</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
97	132,6	155,5	89,1	145,8	182,7
98	228,0	225,6	129,7	162,3	121,4
99	115,8	133,2	81,0	106,9	103,6
100	173,1	194,2	144,1	148,3	96,1
101	161,5	207,5	115,8	129,8	162,8
102	167,4	174,1	114,2	133,4	131,7
103	168,0	221,0	100,9	143,8	130,0
104	184,9	178,1	109,1	143,8	119,3
105	164,1	197,1	87,5	149,5	92,1
106	190,9	218,9	103,5	128,9	108,9
107	128,0	166,1	85,2	142,4	71,8
108	179,4	229,4	86,1	133,8	74,1
109	163,3	180,0	85,7	117,3	100,6
110	180,7	223,8	119,0	138,3	106,1
111	149,9	160,2	86,4	115,7	100,9
112	105,4	180,0	76,8	168,9	100,5
113	175,4	215,1	111,3	149,7	123,1
114	176,1	212,3	105,9	136,3	77,4
115	132,0	173,8	76,1	107,1	101,1
116	133,3	177,5	91,6	120,2	124,2
117	115,9	179,1	82,4	124,1	82,3
118	154,1	201,2	89,4	129,7	85,5
119	177,2	223,1	118,8	183,3	120,1
120	159,7	211,7	120,7	165,4	121,7
121	156,4	219,4	104,0	129,8	163,8
122	140,3	187,3	110,6	130,3	157,3
123	95,5	105,1	46,3	85,9	52,1
124	197,7	234,6	123,2	186,3	158,7
125	152,6	180,7	117,6	129,0	80,9
126	174,5	207,2	102,6	152,7	72,8
127	112,2	148,0	84,5	126,2	111,8
128	167,0	215,4	71,4	159,2	129,1
129	130,0	151,9	119,0	138,7	98,6
130	153,9	201,2	91,6	143,8	126,0
131	166,8	215,1	111,1	105,6	84,2
132	169,9	179,4	114,5	143,2	99,5
133	166,1	228,8	74,4	125,2	134,9
134	141,9	195,3	70,2	123,0	120,4
135	150,1	198,1	85,2	114,8	124,8
136	127,2	137,9	73,9	122,2	82,6
137	142,5	242,7	88,2	129,8	101,0
138	229,7	262,1	163,8	181,1	120,4
139	240,1	277,3	135,9	198,2	113,9
140	129,1	164,7	119,3	124,8	102,0
141	153,4	165,6	111,7	118,8	104,9
142	126,4	223,7	115,7	161,2	83,4
143	138,7	204,8	109,7	136,2	71,5
144	157,5	196,2	103,2	171,8	129,1

Anexo 6. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* de bovinos município de São Miguel do Guamá (n=181) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.

SOROS	<i>Babesia bigemina</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Trypanosoma vivax</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
145	181,1	257,1	126,0	158,2	112,3
146	165,6	198,4	102,8	141,5	108,1
147	121,9	199,5	101,0	138,8	80,0
148	156,4	178,7	147,5	177,2	72,6
149	135,7	234,7	113,5	148,4	79,4
150	137,0	234,7	103,5	149,8	122,4
151	220,2	191,8	125,0	147,3	81,4
152	202,0	289,3	118,7	175,3	101,1
153	122,6	267,5	111,2	127,1	100,5
154	203,7	231,0	129,2	144,4	103,1
155	192,3	209,8	145,6	140,5	83,4
156	210,2	229,7	102,8	170,7	130,3
157	164,2	184,4	105,8	134,1	100,9
158	159,1	229,7	138,9	145,0	104,2
159	199,8	251,7	107,9	130,8	78,3
160	130,5	214,5	100,3	149,7	104,7
161	136,8	216,4	82,9	130,6	78,0
162	156,3	227,1	119,5	146,0	110,1
163	250,2	221,0	136,8	153,0	108,1
164	135,1	205,3	99,7	124,7	89,5
165	148,8	216,1	115,7	153,2	86,5
166	141,1	195,2	76,7	159,8	77,6
167	123,9	156,9	85,5	136,2	73,3
168	142,7	215,0	112,6	134,0	122,2
169	167,3	257,3	115,5	134,0	103,8
170	118,0	203,9	92,3	151,8	82,1
171	146,6	212,1	115,7	122,6	89,4
172	126,3	253,7	100,8	109,7	78,5
173	127,3	197,2	104,1	123,6	74,5
174	155,5	193,7	92,2	140,7	143,7
175	219,3	262,7	112,8	193,4	168,7
176	176,3	205,8	156,1	177,2	107,3
177	217,6	253,3	135,9	153,5	101,4
178	165,7	197,1	154,4	164,9	103,3
179	216,4	249,0	178,3	207,9	145,0
180	169,6	204,7	120,5	138,3	110,3
181	297,8	301,6	180,6	227,7	118,6
Média	251,4	211,6	114,5	153,3	114,3
Desv Pad	126,6	43,2	31,5	32,9	38,3
Total	181	181	181	181	181
% Negativos	0,6	0,0	30,9	3,3	38,7
% Positivos	99,4	100,0	69,1	96,7	61,3

Anexo 7. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* de bovinos do município de Castanhal (n=65) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.

SOROS	<i>Babesia bigemina</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Trypanosoma vivax</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
182	88,3	73,1	29,2	69,6	35,8
183	112,3	91,7	75,1	82,0	65,9
184	113,4	106,7	76,2	83,0	68,8
185	128,8	107,1	76,4	88,4	70,3
186	145,6	108,1	79,9	90,7	70,9
187	147,2	109,6	83,6	91,9	72,1
188	147,4	112,6	84,6	93,0	72,9
189	149,9	114,3	84,8	95,4	73,1
190	151,8	118,1	85,2	101,1	73,9
191	153,6	119,9	88,2	101,5	74,4
192	154,4	119,9	88,9	102,0	74,6
193	158,7	122,3	91,5	102,0	78,1
194	162,9	125,6	92,6	102,1	78,2
195	164,3	126,4	100,6	102,6	78,8
196	171,1	126,4	101,2	104,4	79,8
197	176,7	127,2	103,2	104,6	81,0
198	176,7	129,6	105,4	104,8	82,7
199	177,5	132,6	105,7	105,7	83,8
200	188,0	136,9	106,7	106,9	85,6
201	189,0	138,5	108,6	107,0	85,8
202	195,5	150,8	110,1	107,4	85,9
203	202,3	153,5	111,0	109,1	86,3
204	207,4	159,4	118,2	109,4	88,0
205	216,8	161,9	118,3	111,8	88,6
206	216,8	162,4	118,5	112,2	90,7
207	227,8	176,1	119,7	112,3	91,3
208	245,7	180,7	121,8	112,5	93,4
209	257,9	183,7	130,0	112,8	99,6
210	263,9	184,7	131,1	113,8	102,6
211	268,8	187,0	131,9	114,9	105,1
212	269,9	190,4	132,6	116,7	109,1
213	295,7	199,7	141,5	119,4	111,9
214	316,2	200,8	143,9	123,0	114,7
215	331,5	202,9	146,9	123,2	117,1
216	337,3	210,7	148,8	124,6	117,3
217	338,4	218,1	156,8	126,4	121,9
218	349,7	225,8	174,0	138,4	122,5
219	351,2	230,3	181,0	139,0	128,7
220	135,5	70,2	49,0	58,9	56,8
221	219,1	117,3	51,4	72,7	67,1
222	224,6	119,1	68,7	94,5	70,0
223	228,0	119,4	80,4	100,3	72,9
224	241,0	123,6	88,0	100,7	73,8
225	259,4	131,0	89,0	101,0	73,8

Anexo 7. Valores das densidades óticas obtidas através do ensaio ELISA indireto dos soros teste para *Babesia bigemina*; *B. bovis*; *Anaplasma marginale*; *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* de bovinos do município de Castanhal (n=65) - estado do Pará. Valores expressos em percentual (DO x100/“cut-off”) referente a cada placa.

SOROS	<i>Babesia bigemina</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Trypanosoma vivax</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
226	267,6	145,0	92,0	101,8	79,0
227	289,6	146,8	93,3	101,9	79,1
228	292,4	149,5	94,9	102,0	79,7
229	292,8	150,1	101,3	102,6	80,7
230	293,6	150,8	102,0	104,3	82,0
231	298,8	151,8	102,3	104,5	92,0
232	298,8	153,2	104,1	104,6	94,8
233	300,0	154,0	105,0	105,0	100,8
234	302,0	159,8	106,1	105,7	101,0
235	311,8	161,6	106,3	107,0	101,4
236	316,2	161,9	107,0	107,8	102,2
237	318,5	167,5	109,6	108,4	102,3
238	323,4	169,0	117,5	110,2	105,3
239	326,3	174,5	117,7	112,2	109,3
240	340,2	177,9	118,3	116,3	110,7
241	349,7	179,4	121,9	116,8	111,1
242	355,8	179,5	123,8	117,0	112,2
243	367,9	179,5	124,8	118,3	114,8
244	376,3	210,4	128,4	120,6	127,5
245	400,6	211,2	135,2	121,0	128,3
246	439,9	224,3	157,5	121,2	142,1
Média	248,0	153,3	107,7	106,2	91,3
Desv Pad	82,50	37,37	27,78	14,00	20,25
Total	65	65	65	65	65
% Negativos	1,5	4,6	33,8	16,9	63,1
% Positivos	98,5	95,4	66,2	83,1	36,9

ANEXO 8. Prevalência dos agentes nos Municípios de Castanhal e São Miguel do Guamá, segundo o teste de Pearson Qui-quadrado com correção de Yates.

	CASTANHAL	S. MIGUEL GUAMÁ
Agentes	Positivo	Positivo
<i>Babesia bigemina</i>	0.98	0.99
<i>Babesia bovis</i>	0.95*	1,0
<i>Anaplasma marginale</i>	0.66	0.69
<i>Trypanosoma vivax</i>	0.83*	0.96
<i>Borrelia burgdorferi</i>	0.36*	0.61

* Houve diferença significativa entre os municípios estudados segundo o teste Qui-quadrado.