



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

KENIO FERREIRA MUNHÓZ

**SORO-OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Neospora  
caninum* EM OVINOS DE PROPRIEDADES RURAIS  
LOCALIZADAS NO NORTE DO PARANÁ, BRASIL**

---

Londrina  
2009

**KENIO FERREIRA MUNHÓZ**

**SORO-OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Neospora caninum* EM OVINOS DE PROPRIEDADES RURAIS LOCALIZADAS NO NORTE DO PARANÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação, em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Milton Hissashi Yamamura

Londrina  
2009

**KENIO FERREIRA MUNHÓZ**

**SORO-OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Neospora caninum* EM OVINOS DE PROPRIEDADES RURAIS LOCALIZADAS NO NORTE DO PARANÁ, BRASIL**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Milton Hissashi Yamamura [Orientador]

---

José da Silva Guimarães Júnior

---

Gércio Luiz Bonesi

Londrina, 27 de julho de 2009.

***"Melhores ou piores é a mesma coisa.  
A bota que nos pisa é sempre uma bota.  
Já compreenderéis o que quero dizer:  
não mudar de senhores, mas não ter nenhum"  
(Bertolt Brecht)***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo amor e presença constante.

Aos meus pais Albino e Geni, que me orientaram o sentido da vida com luta e perseverança e sempre servindo com humanidade e humildade.

Ao mestre e amigo, professor e orientador Dr. Milton Hissashi Yamamura pela orientação segura, amizade, paciência e, incentivo.

Ao Prof. Dr. João Luís Garcia pela atenção prestada durante toda a pesquisa, obrigado pela disponibilidade e amizade demonstrado.

A todos os professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal-DMVP, especialmente ao Prof. Dr. Odilon Vidotto, Prof. Dr. Ademir Benedito da Luz Pereira e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Lemos Freire, que participaram direta ou indiretamente neste trabalho, pela amizade e apoio, especialmente ao amigo Prof. Dr. José da Silva Guimarães Junior como idealizador deste projeto.

Aos mestrandos Mário de Luca Neto e Sérgio Mangano de Almeida Santos pela colaboração fundamental para a realização deste trabalho.

Aos amigos da pós-graduação, Ronaldo, Michelle, Kátia, Marcela, Adriana, Vanessa, Letícia, Dauton, Felipe, Ana Paula, Kledir, Aline, Fernando e Ivo pela agradável convivência durante estes 2 anos.

Aos funcionários do DMVP, especialmente, Ademir, Aldair, Dalva e Elizabete Marana, pelo auxílio técnico com dedicação e amizade.

Aos produtores rurais, por permitirem o acesso e colheita de material nas propriedades.

À Neuza e Maria José pelas conversas, bolinhos e cafezinhos de todos os dias.

Ao Sérgio, Neide e Cris pela amizade.

À minha amiga e esposa Amanda, pelo auxílio, apoio, incentivo, tolerância e muita compreensão neste período.

A todos os animais (ovinos e cães), que involuntariamente participaram do estudo.

À Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade concedida.

Aos funcionários da PROGRAD.

A secretária da pós-graduação, Helenice, pela paciência e prestatividade.

A CAPES pela bolsa de Mestrado concedida.

E a todos que contribuíram de maneira direta e indireta neste trabalho, muito obrigado!

MUNHÓZ, K. F. **Soro-ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos de propriedades rurais localizadas no Norte do Paraná, Brasil.** 2009. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

## RESUMO

A neosporose é uma doença causada pelo protozoário denominado *Neospora caninum*. Os cães e coiotes são hospedeiros definitivos, e os ovinos, entre os animais de produção, se constituem em uma das espécies susceptíveis ao *N.caninum*, podendo ocorrer problemas reprodutivos, e conseqüentemente perdas econômicas. Este trabalho teve por objetivo verificar a soro-ocorrência de anticorpos *anti-N.caninum* em ovinos naturalmente infectados. Para isto foram colhidas 381 amostras de sangue de fêmeas ovinas, provenientes de 11 propriedades rurais localizadas na região Norte do Estado do Paraná. Para a pesquisa de anticorpos *anti-N.caninum*, utilizou-se a técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI, > 50). Também foram colhidas amostras de sangue de 25 cães, que cohabitam com ovinos nestas propriedades. Para o estudo epidemiológico foi aplicado um questionário contendo informações ligadas a neosporose, tanto para ovinos quanto para os cães. Dos 381 soros ovinos testados obteve-se uma soro-ocorrência de 13,91% de positividade (10,7% < IC 0,95% < 17,9%) e dos 25 cães testados obteve-se 36% de positividade (18,7% < IC 0,95% < 57,4%). Foi observada diferença significativa na associação entre o resultado da sorologia dos ovinos para *N.caninum* e as variáveis "abate animais na propriedade" (P=0,0041; OR=5,27) e "cães com acesso às vísceras" (P=0,0001; OR=1,49).

**Palavras-chave:** *Neospora caninum*. Ovinos. Imunofluorescência indireta. Cães. Soro-ocorrência.

MUNHÓZ, K. F. **Soro-ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos de propriedades rurais localizadas no Norte do Paraná, Brasil.** 2009. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

### ABSTRACT

The neosporose is a disease caused by protozoan called *Neospora caninum*. The coyote and dogs are definitive hosts, and sheep, among livestock, is a species likely to *N.caninum*, reproductive problems may occur, and hence economic losses. This study aimed to verify the occurrence of serum antibodies in sheep naturally infected *N.caninum*. For this were collected 381 blood samples from female sheep from 11 farms located in the northern region of Paraná State. For the detection of antibodies *N.caninum*, using the technique of reaction of indirect immunofluorescence (IFAT, >50). Also blood samples were collected from 25 dogs, which co-inhabit with sheep in these properties. For the epidemiological study was applied a questionnaire with information related to neosporose for both sheep and for the dogs. Of 381 sheep sera tested were obtained by a serum-occurrence of 13.91% of positivity (10.7% <CI 0.95% <17.9%) and 25 dogs tested were obtained by 36% of positivity (18.7% <CI 0.95% <57.4%). Significant difference was observed in the association between the results of serology for the sheep and the variables *N.caninum* "slaughter animals on the property (P = 0.0041, OR = 5.27) and dogs with access to the viscera (P = 0.0001, OR = 1.49).

**Keywords:** *Neospora caninum*. Sheep. Indirect immunofluorescence. Dogs. Serum-occurrence.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Ocorrência de anticorpos *anti-N.caninum* (IFI-IgG) em soros de ovinos e de cães, em 11 propriedades rurais localizadas no norte do Paraná, Brasil, 2009.....51
- Tabela 2** – Distribuição das ocorrências de títulos de anticorpos obtidos pela reação de imunofluorescência indireta em ovinos na região no norte do Paraná, Brasil, 2009.....52
- Tabela 3** – Distribuição das ocorrências de títulos de anticorpos obtidos pela reação de imunofluorescência indireta em cães no norte do Paraná, Brasil, 2009.....52
- Tabela 4** – Associação entre as variáveis estudadas com a soropositividade dos ovinos ao *N.caninum* (IFI-IgG) em 11 propriedades no norte do Paraná, Brasil, 2009.....53

## LISTA DE QUADROS E FIGURAS

<b>Quadro 1</b> – Frequência de anticorpos <i>anti-N.caninum</i> em ovinos no Brasil .....	14
<b>Quadro 2</b> – Métodos sorológicos e antígenos usados no diagnóstico de <i>N. caninum</i> .....	23
<b>Quadro 3</b> – N° de propriedades e respectivos rebanhos e amostras utilizados no estudo.....	43
<b>Figura 1</b> – Distribuição geográfica dos municípios estudados, na região norte do estado do Paraná.....	43

## SUMÁRIO

<b>1 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
<b>NEOSPOROSE EM OVINOS</b> .....	12
1.1 INTRODUÇÃO .....	12
1.2 EPIDEMIOLOGIA.....	14
1.3 CICLO BIOLÓGICO.....	16
1.4 NEOSPOROSE EM OVINOS .....	18
1.5 PERDAS ECONÔMICAS .....	20
1.6 NEOSPOROSE EM HUMANOS.....	21
1.7 DIAGNÓSTICO .....	21
1.8 PREVENÇÃO E CONTROLE .....	23
1.9 REFERÊNCIAS.....	24
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	36
2.1 OBJETIVO GERAL.....	36
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	36
<b>3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO</b> .....	37
3.1 SORO-OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA <i>NEOSPORA CANINUM</i> EM OVINOS DE PROPRIEDADES RURAIS LOCALIZADAS NO NORTE DO PARANÁ, BRASIL .....	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT .....	39
3.1.1 Introdução .....	40
3.1.2 Material e Métodos.....	42
3.1.2.1 População e amostragem.....	42
3.1.2.2 Colheita de amostras.....	44
3.1.2.3 Variáveis estudadas .....	44
3.1.2.4 Exame sorológico .....	44
3.1.2.5 Análise estatística.....	45
3.1.3 Resultados .....	45
3.1.3.1 Resultados do estudo epidemiológico .....	45
3.1.3.2 Resultados dos exames .....	46

3.1.4 Discussão.....	46
3.1.5 Conclusão .....	50
3.1.6 Referências .....	55
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>60</b>
APÊNDICE A.....	61

## 1 REVISÃO DE LITERATURA

### NEOSPOROSE OVINA

#### 1.1 INTRODUÇÃO

A neosporose infecção causada por *Neospora caninum* mostrou-se uma importante e emergente doença reprodutiva em todo o mundo (ANDERSON, ANDRIANARIVO; CONRAD (2000).

O *N.caninum* é um protozoário intracelular obrigatório causador da neosporose, doença de distribuição mundial, que pode acometer uma gama considerável de espécies animais domésticos e silvestres (DUBEY, 1999; GONDIM et al., 2004).

Na Noruega Bjerkas, Mohn e Presthus (1984) ao examinarem cérebros de sete cães, filhotes da raça Boxer com problemas neurológicos, encontraram cistos teciduais semelhantes aos do *Toxoplasma gondii*, todavia, não detectaram anticorpos *anti-T.gondii* no soro desses animais. Após esse achado, o pesquisador Dubey et al. (1988) realizaram um estudo retrospectivo (1948 - 1987) examinando cortes histológicos provenientes de 23 cães com provável toxoplasmose. O *T.gondii* foi identificado em 13 cães e um novo parasito, estruturalmente distinto, foi encontrado em 10 cães, sendo este pertencente a um novo gênero e espécie e denominado *N.caninum*.

Segundo Gondim, Pinheiro e Almeida (2007), até o momento, o cão e o coiote são os únicos identificados como hospedeiros definitivos do parasita. Entretanto, acredita-se que outros canídeos silvestres também possam assumir essa condição (GONDIM et al., 2004; McALLISTER et al., 1998).

Basso et al. (2001) observaram, pela primeira vez, na Argentina, um cão eliminando oocistos de *N.caninum* devido a infecção natural. Em estudo, foi possível observar que cães, alimentados com placentas de bovinos naturalmente infectados, eliminaram oocistos pelas fezes (DIJKSTRA, 2001). O primeiro isolamento do *N.caninum* em cães no Brasil foi realizado na Bahia, em um cão da raça Collie, macho, com sete anos de idade, que apresentava sinais neurológicos

(GONDIM et al., 2001). A soroprevalência em cães vem sendo estudada em diferentes regiões do território brasileiro, com valores variando entre 4,3% e 59,0% (GENNARI, 2004), evidenciando o tipo de alimentação (BRESCIANI et al., 2006), o ambiente no qual o animal vive - urbano ou rural (FERNANDES et al., 2004), o acesso as ruas (GENNARI et al., 2002; JESUS et al., 2002; AZEVEDO et al., 2005) e a idade dos cães (SOUZA et al., 2001; CANÓN-FRANCO et al., 2003; AZEVEDO et al., 2005; GENNARI et al., 2006), dentre outros fatores importantes de risco na epidemiologia do *N. caninum*.

Dubey et al. (1990a) avaliando um cordeiro recém-nascido que apresentava sintomatologia e veio a óbito com uma semana de vida, constataram através da imuno-histoquímica (IHQ) e análise ultraestrutural dos cistos encontrados, que se tratava de uma infecção por *N.caninum* pela via transplacentária, sendo este o primeiro caso de *N.caninum* infectando naturalmente nesta espécie animal.

A presença de anticorpos para *N.caninum* em amostras de soro, indica exposição ao parasita, que pode ser identificada por meio de testes sorológicos tais como a Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI (DUBEY et al., 1988), Neospora Agglutination Test - NAT (ROMAND; THULLIEZ; DUBEY, 1998) ou Teste Imunoenzimático - ELISA (BJORKMAN; HOLMDAHL; UGGLA, 1997; DUBEY et al., 1997).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi o primeiro teste sorológico usado para a demonstração de anticorpos anti-*N.caninum* (DUBEY et al., 1988) e vem sendo amplamente usada para diagnóstico de infecção em ovinos e em cães, constituindo-se em padrão ouro para a comparação com outros testes (ATKINSON, et al., 2000). A RIFI é baseada no princípio de fixação de taquizoítos íntegros em lâminas, as quais são incubadas com o soro teste diluídas e, em uma segunda etapa, com anticorpos marcados com fluoresceína direcionados contra imunoglobulinas da espécie animal sob investigação. A reação é avaliada em microscópio de fluorescência e, para um resultado positivo, é necessário uma brilhante e completa fluorescência periférica do parasita (UGGLA; HILALI; LÖVGREEN, 1987; PARÉ; HIETALA; THURMOND, 1995).

No Brasil, as pesquisas com *N.caninum* estão em fase de levantamentos sorológicos e sua soroprevalência é desconhecida em algumas regiões. A falta de informações sobre a epidemiologia do agente tem limitado

substancialmente a proposição de soluções objetivas e práticas para prevenir a infecção. Inúmeras são as causas de problemas reprodutivos em ovinos, devendo, o *N.caninum*, ser incluído, quando do diagnóstico desses possíveis agentes. Dessa maneira, o estudo epidemiológico da doença é fundamental para verificar-se a relação hospedeiro, agente e meio ambiente.

## 1.2 EPIDEMIOLOGIA

Dados a respeito da prevalência de *N.caninum* na espécie ovina no Brasil e no mundo, são menores quando comparados com a espécie bovina. A distribuição do parasita é mundial, sendo que a infecção já foi relatada nos cinco continentes (DUBEY, 1999).

Helmick et al. (2002) encontraram, pela reação de imunofluorescência indireta (ponto de corte 1:50), três soros positivos (0,45%) num total de 660 soros provenientes de ovelhas que haviam abortados na Inglaterra e País de Gales. Neste país e na Inglaterra foi estimado em 12,5% dos abortamentos bovinos são causados pela neosporose (DAVISON; OTTER; TREES, 1999b). Na Califórnia, a neosporose foi apontada como a maior causa de abortamentos em bovinos de leite (ANDERSON et al., 1991).

O quadro 1 mostra alguns trabalhos que relatam freqüências de anticorpos anti-*N.caninum* em ovinos no Brasil.

Estado	Espécie	Frequência	Autor/Ano
RS	Ovino	3,2%	VOGEL et al., 2006
PR	Ovino	9,5%	ROMANELLI et al., 2002
SP	Ovino	9,2%	FIGLIUOLO et al., 2004
MS	Ovino	12%	GONÇALVES et al., 2004
BA	Ovino	7,4%	OTERO et al., 2002
DF	Ovino	8,7%	UENO et al., 2005
RO	Ovino	29%	AGUIAR et al., 2004

**Quadro 1** – Frequência de anticorpos *anti-N.caninum* em ovinos no Brasil.

Algumas pesquisas demonstram que a transmissão vertical ocorre numa proporção muito maior que a horizontal em bovinos, e é o principal meio pelo qual a infecção mantém-se no rebanho por muitas gerações (PARÉ; THURMOND; HIETALA, 1996; WOUDA; MOEN; SCHUKKEN, 1998, DAVISON, OTTER; TREES, 1999a). Wouda, Moen e Schukken (1998) observaram que animais soropositivas filhas de vacas que abortaram por neosporose têm três vezes mais risco de abortar que as vacas soronegativas. Neste estudo, apenas duas bezerras soronegativas (teste feito antes da ingestão de colostro) filhas de vacas soropositivas também abortaram, sugerindo que a infecção pós natal também ocorre, mas numa proporção bem menor.

Entretanto, as altas prevalências em alguns rebanhos e a manutenção da infecção na propriedade por tempo prolongado não poderiam ser resultado somente de transmissões verticais (WOUDA et al., 1999). Assim, outros trabalhos demonstram influência de fatores de risco relacionados à transmissão horizontal em bovinos. Pare et al. (1998) encontraram forte associação entre positividade para neosporose em bovinos de leite com presença de cães na propriedade, enquanto para outro fator, como o tipo de manejo, não houve associação. Bartels, Wouda e Schukken (1999) observaram associação entre a presença de cães e de aves domésticas (que poderiam servir como disseminadores de oocistos eliminados por cães) com a ocorrência de abortamentos por neosporose em bovinos de leite na Holanda. Já Wouda et al. (1999) encontraram associação da soropositividade em cães de fazendas com a prevalência nos bovinos, sendo que a prevalência em cães de áreas rurais foi maior que a de cães de áreas urbanas, indicando que haja maior risco de exposição nos cães rurais devido ao carnivorismo. Sob condições naturais, não se sabe como os cães infectam-se. Possíveis formas de infecção seriam a ingestão de placentas, fetos ou outros tecidos de bovinos ou predação de pequenos mamíferos ou aves (WOUDA et al., 1999).

O confinamento no inverno também pode aumentar a soroprevalência (SANDERSON; GAY; BASZLER, 2000), apesar de Wouda, Bartels e Moen (1999) terem constatado maior ocorrência de abortamentos no verão.

A alimentação com silagem de milho durante o verão teve associação com abortamentos causados pela neosporose, e a hipótese sugerida seria a produção de micotoxinas na silagem, que provocariam imunossupressão no animal. Porém, infecções intercorrentes com o vírus da diarreia viral bovina, com o

herpesvirus bovino tipo 1, com *Leptospira hardjo* e com *Salmonella dublin* não tiveram associação (BARTELS; WOUDA; SCHUKKEN, 1999).

### 1.3 CICLO BIOLÓGICO

Três formas infectantes do parasito são descritos: taquizoítos, bradizoítos contidos em cistos teciduais e esporozoítos contidos em oocistos (DUBEY, 2003).

A transmissão do *N.caninum* ocorre por dois mecanismos conhecidos: horizontal e vertical. A transmissão horizontal ou pós-parto é a condição em que a infecção ocorre por ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados expostos no meio ambiente por meio das fezes dos hospedeiros definitivos (SOUZA et al., 2003). A transmissão vertical ou infecção congênita (infecção via placentária) ocorre quando a mãe transmite a doença para seus descendentes, geração após geração (GUIMARAES JUNIOR, 2002).

O hospedeiro pode infectar-se pela ingestão de oocistos ou de cistos teciduais, ou pela via transplacentária (DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2002a).

O ciclo biológico do parasita foi elucidado em 1998, quando foi demonstrada a eliminação de oocistos nas fezes por cães que ingeriram cistos contidos em cérebro de camundongo infectado, concluindo-se que o cão era um hospedeiro definitivo (MCALLISTER et al., 1998). Em outro experimento, Lindsay, Dubey e Duncan (1999) observaram eliminação de oocistos por cães cinco dias após a ingestão de cistos teciduais, durante seis dias consecutivos. Neste estudo, os oocistos esporularam no ambiente após 24 horas e um dos cães eliminou oocistos, embora não tenha sido verificada conversão sorológica. Basso et al. (2001) confirmaram a condição do cão como hospedeiro definitivo ao observarem a eliminação de oocistos por cão naturalmente infectado. Mais recentemente foi observado que o coioete (*Canis latrans*) também pode eliminar oocistos nas fezes e representar um hospedeiro definitivo (GONDIM et al., 2004).

O oocisto esporulado apresenta dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (DUBEY et al., 2002a) e, à microscopia óptica, são muito semelhantes aos de *Hammondia heydorni* em fezes de cães e de *Toxoplasma gondii*

e *Hammondia hammondi* em fezes de gatos (LINDSAY; UPTON; DUBEY, 1999). A quantidade de oocistos eliminada pelos cães nas fezes é pequena em comparação à quantidade eliminada de oocistos de *T.gondii* pelos gatos (DUBEY et al., 2002), mas Gondim, Mcallister e Gao (2005) observaram que filhotes eliminam uma quantidade maior que cães adultos. Neste mesmo estudo, foi verificada re-excreção espontânea de oocistos por cães dois meses após a primeira inoculação, e ainda após um segundo desafio 18 a 20 meses depois do primeiro desafio. Em contrapartida, cães reinoculados após oito meses não eliminaram oocistos, sugerindo a existência de uma possível imunidade durante esse período.

O ciclo sexuado ocorre apenas no hospedeiro definitivo, mas os estágios entero-epiteliais no cão ou coiote ainda não foram demonstrados (DUBEY et al., 2002a). O cão pode comportar-se como hospedeiro definitivo ou intermediário (DUBEY et al., 2002a). No hospedeiro intermediário ocorrem os estágios assexuados: os taquizoítos e bradizoítos (WOUDA et al., 1999).

Há relatos de infecções naturais em cães (DUBEY et al., 1988b), bovinos (CONRAD et al., 1993), búfalos (RODRIGUES et al., 2004), ovinos (KOBAYASHI et al., 2001), caprinos (DUBEY; ACLAND; HAMIR, 1992), eqüinos (LINDSAY et al., 1996), raposas (ALMERÍA et al., 2002), veados (DUBEY et al., 1996b), rinoceronte (WILLIAMS et al., 2002), lhama e alpaca (SERRANO-MARTÍNEZ et al., 2004), ratos (HUANG et al., 2004), e apenas infecções experimentais em gatos (DUBEY; LINDSAY; LIPSCOMB, 1990), suínos (JENSEN et al., 1998), camundongos (LINDSAY; DUBEY, 1990), gerbis (DUBEY; LINDSAY, 2000), coiotes (GONDIM et al., 2004) e macacos (BARR et al., 1994).

Os taquizoítos penetram ativamente na célula do hospedeiro e se dividem rapidamente por endodiogenia, provocando a lise da célula e subsequentemente infectando novas células (INNES et al., 2001). Com a resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos, formas de multiplicação lenta contidas em cistos teciduais (INNES et al., 2001; WOUDA et al., 1999). Uma queda de imunidade do hospedeiro poderia provocar reativação dos bradizoítos e rompimento do cisto (WOUDA et al., 1999).

Os taquizoítos podem ter formato ovóide, lunar ou globular, e localizam-se dentro de um vacúolo parasitóforo no citoplasma da célula hospedeira (DUBEY et al., 2002a; SPEER et al., 1999). Taquizoítos já foram observados em macrófagos, neutrófilos, células do tecido nervoso, hepatócitos, fibroblastos,

miócitos, células epiteliais tubulares renais e células endoteliais vasculares (DUBEY; LINDSAY, 1996; SPEER; DUBEY, 1989).

Os oocistos podem ter formato redondo ou ovalado, essa parede cística encerra os bradizoítos que podem estar em número de 20 a 100 (SPEER et al., 1999). Os cistos de *N.caninum* são encontrados em baixo número nos tecidos quando comparado aos de *T.gondii* (SPEER et al., 1999). Eles são observados comumente no sistema nervoso (DUBEY et al., 2002a; DUBEY; LINDSAY, 1996), mas já foram encontrados em músculo ocular de potro (LINDSAY et al., 1996) e músculo de bovino e cão (PETERS et al., 2001).

#### **1.4 NEOSPOROSE EM OVINOS**

Há poucos relatos de infecção natural em ovinos; a maior parte dos conhecimentos sobre a neosporose nesta espécie advém de inoculações experimentais, cujas alterações clínicas e histopatológicas assemelham-se às da toxoplasmose ovina e neosporose bovina (BUXTON et al., 1997; MCALLISTER et al., 1996).

O primeiro relato da enfermidade na espécie foi em 1990 (DUBEY et al., 1990a). Estes autores reanalisaram o tecido neurológico de um cordeiro do Reino Unido com suspeita de toxoplasmose que apresentava sinais neurológicos e veio a óbito com uma semana de idade. Ao exame histopatológico do cérebro e medula espinhal, foi observado encefalomielite não superativa e redução da massa cinzenta com focos de cavitação, além de cistos semelhantes aos de *T.gondii*, porém o diagnóstico não fora comprovado (HARTLEY; BRIDGE, 1975). A nova análise, feita por microscopia eletrônica e imuno-histoquímica, confirmou a presença de cistos de *N.caninum* no cérebro e medula espinhal.

Em outro trabalho, Kobayashi et al. (2001) relataram a presença de cistos teciduais de *N.caninum* no cérebro de uma ovelha prenhe assintomática e no cérebro de seus dois fetos, confirmada por imunoperoxidase e reação em cadeia pela polimerase. Ao exame histopatológico, os cérebros dos fetos mostraram encefalite multifocal. No mesmo ano, no Japão, o parasita foi isolado do cérebro de

uma ovelha prenhe assintomática sem histórico de abortamento (KOYAMA et al., 2001).

Em um estudo com 281 fetos ovinos abortados na Inglaterra e País de Gales, nenhum deles mostrou-se infectado por *N.caninum* pela imunohistoquímica ou sorologia do líquido pleural dos fetos (OTTER et al., 1997). Em 2003, relatou-se pela primeira vez a detecção do agente em abortos ovinos resultantes de infecção natural. O estudo foi feito em uma propriedade da Suíça com histórico de abortamentos, sendo que, de 20 abortos analisados, quatro foram positivos para o agente através do diagnóstico laboratorial na reação em cadeia da polimerase (PCR) e cistos teciduais foram observados no cérebro por imunohistoquímica (HÄSSIG et al., 2003).

Apesar da escassez de relatos de infecções naturais associadas a abortos, infecções experimentais têm demonstrado facilmente a ocorrência de transmissão vertical, de abortamentos e outras falhas reprodutivas (BUXTON et al., 1997; BUXTON et al., 1998; JOLLEY et al., 1999; MCALLISTER et al., 1996). Em inoculação experimental de ovelhas prenhes, Mcallister et al. (1996) observaram a ocorrência de abortamentos, fetos mumificados, natimortos, nascimento de filhotes fracos e nascimento de filhotes clinicamente saudáveis, mas congenitamente infectados, dependendo do período de gestação em que a fêmea era infectada. Aquelas ovelhas inoculadas com 65 dias de gestação abortaram, enquanto as que foram inoculadas com 120 dias de gestação deram à luz cordeiros vivos. As ovelhas infectadas não apresentaram outros sintomas além dos reprodutivos.

Em um experimento Buxton et al. (1998) demonstraram a ocorrência de morte e reabsorção embrionária, além de outras falhas reprodutivas já citadas, de acordo com a idade gestacional em que a ovelha era infectada. O protozoário parece ter predileção pelo epitélio coriônico fetal e vasos sanguíneos placentários, induzindo a vasculite, trombose e necrose de placentomas (BUXTON et al., 1998).

Jolley et al. (1999) verificaram que as ovelhas podem abortar repetidamente por neosporose após uma infecção inicial que se torna crônica, mas parece haver um certo grau de imunidade contra novos abortamentos ou transmissão transplacentária (BUXTON et al., 2001). Um experimento demonstrou que ovelhas inoculadas antes da prenhez e depois desafiadas com 90 dias de gestação desenvolveram algum grau de imunidade ao darem à luz cordeiros mortos e vivos, sendo que a maioria dos cordeiros vivos não nasceram infectados, ao

contrário do grupo que teve a primoinfecção durante a gestação, em que ocorreu perda de todos os fetos. Um terceiro grupo, inoculado uma única vez antes da prenhez não apresentou nenhum abortamento, mas deu à luz cordeiros infectados (BUXTON et al., 2001).

Innes et al. (2001) observaram resultados semelhantes com inoculação de vacas prenhes. No entanto, em outro estudo, vacas naturalmente infectadas e depois desafiadas durante a gestação não abortaram, mas deram à luz bezerros congenitamente infectados (WILLIAMS et al., 2003). Os autores sugerem que a transmissão transplacentária possa ter ocorrido devido à recrudescência da primoinfecção, e não pela re-infecção, já que também ocorreu transmissão vertical no grupo de vacas naturalmente infectadas, mas não desafiadas na gestação. A infecção pelo parasita estimula uma resposta humoral e celular, mas acredita-se que a resposta celular seja mais importante devido ao fato de o parasita ser intracelular (INNES et al., 2002). Segundo Innes et al. (2002), durante a gestação pode haver regulação da liberação de citocinas importantes na imunidade celular contra o *N.caninum*, mas que em altos níveis poderiam levar a abortamento.

A diminuição dessas citocinas seria uma possível explicação para a reagudização da infecção durante a prenhez. Muito embora novos estudos devam ser feitos quanto à participação das citocinas na imunidade para ovinos.

## 1.5 PERDAS ECONÔMICAS

Há poucos estudos que quantifiquem os prejuízos da neosporose. Não há estudos relacionados a esse tópico em ovinos.

Os prejuízos gerados com a doença em bovinos decorreriam de abortamentos, redução do valor do animal, aumento do intervalo entre partos, infertilidade, aumento do descarte e queda da produção de leite (TREES et al., 1999). As perdas estimadas com abortamentos em bovinos por neosporose na Califórnia são de 35 milhões de dólares por ano (DUBEY, 1999).

Hernandez, Risco e Donovan (2001) verificaram que vacas soropositivas produziram 3 a 4% menos leite que vacas soronegativas. Já Barling et

al. (2000) observaram associação entre soropositividade para *N.caninum* em bezerros de corte e redução do ganho de peso e peso vivo ao abate.

## 1.6 NEOSPOROSE EM HUMANOS

Não se conhece ainda o potencial zoonótico deste parasita, porém, já é sabido que, quando a população humana entra em contato com o parasita, a população humana apresenta algum grau de imunocomprometimento (DUBEY; LINDSAY, 1996; MINEO, 2008). Embora nenhum caso de neosporose tenha sido relatado em humanos, anticorpos *anti-N.caninum* já foram detectados na espécie (MINEO, 2008).

Tranas et al. (1999) observaram 69 soros positivos (6,7%) dentre 1029 soros de doadores de sangue no Estado da Califórnia, Estados Unidos da América, pela reação de imunofluorescência indireta à diluição 1:100, mas à diluição 1:200 todos foram negativos. Porém, Robert, Tourte-Schaefer e Klein (1998) não encontraram nenhum soro positivo entre 500 amostras de mulheres grávidas da França pela RIFI à diluição 1:80, assim como Petersen et al. (1999), que investigaram soros de 76 mulheres da Dinamarca com histórico de abortamento pelas técnicas de ELISA, RIFI e Western blot e não encontraram nenhum soro positivo.

## 1.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico preciso do *N.caninum* requer a combinação de histórico do rebanho, sinais clínicos e dados de laboratório. Ovinos adultos com histórico de aborto o nascimento de animais natimortos enunciam possível infecção por *N.caninum*. Entretanto, casos assintomáticos em ovinos e os sinais inespecíficos da neosporose dificultam o diagnóstico clínico da doença, tornando o diagnóstico laboratorial imprescindível para confirmar uma infecção por *N.caninum*. A confirmação laboratorial direta é realizada por meio de exames histopatológicos e

imuno-histoquímicos, da reação em cadeia da polimerase (PCR) e através do isolamento dos parasitas mediante a inoculação do material suspeito (ANDREOTTI et al., 2002). Em fetos abortados, pesquisa-se o protozoário em líquidos fetais e tecidos (placenta, cérebro, coração e fígado do feto), por meio de técnicas que permitam a detecção de lesões, o isolamento e identificação do parasita e a detecção de ácidos nucleicos (DUBEY et al., 2002).

No entanto, a viabilidade do parasita e sua distribuição compreendem, na maioria das vezes, um empecilho para a detecção do protozoário em tecidos, tornando o diagnóstico sorológico (indireto), com a pesquisa de anticorpos contra *N.caninum*, uma alternativa plausível para a concretização do diagnóstico definitivo (ANDREOTTI et al., 2002). A presença de anticorpos específicos é útil como auxílio no diagnóstico e em estudos epidemiológicos (HUFFMANN, 2007).

Especialmente em estudos epidemiológicos de abortamento em decorrência do *N.caninum*, a sorologia é utilizada como método diagnóstico. A maior indicação do sorodiagnóstico é para a avaliação de exposição e risco de infecção do rebanho, do que, especificamente, para o diagnóstico de abortamento em animais associados ao *N.caninum*, pois este é feito geralmente pelos exames histopatológico e imuno-histoquímico dos tecidos fetais, cuja utilização de diferentes técnicas diagnósticas, como a PCR, maximiza a chance de detectar a infecção por *N.caninum* nos fetos. Vale ressaltar que, em casos de abortamento, outras doenças também devem ser investigadas, como a brucelose e toxoplasmose (ANDREOTTI et al., 2002).

Nos estudos sorológicos, embora existam várias técnicas para detectar a presença de anticorpos séricos específicos para *N.caninum* (cães e ovinos), as técnicas mais utilizadas são: RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta) e teste ELISA ( *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) (ANDREOTTI et al., 2002). Quadro 2.

Métodos	Antígenos
RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta)	Taquizoítas
Imunoblot	Extrato solúvel
ELISA cinético (Teste Imuno-Enzimático)	Sonicado
ELISA	Extrato solúvel
CI-ELISA	Extrato iscom
r-ELISA	P65
RIFI	NCDGI-2, N54
MAT (Teste de Aglutinação Modificada)	Taquizoítas

**Quadro 2** – Métodos sorológicos e antígenos usados no diagnóstico de *N.caninum*

**Fonte:** ANDREOTTI et al., 2002.

## 1.8 PREVENÇÃO E CONTROLE

As medidas de prevenção e controle da neosporose muitas vezes podem tornar-se inviáveis economicamente ou pouco práticas. Ainda não há um tratamento efetivo contra a neosporose. Estudos utilizando drogas antiprotozoárias em terneiros infectados têm mostrado algum efeito relativo à diminuição da disseminação do parasito no animal. Porém, como é impossível prever o aborto, o tratamento de neosporose ovina não teria nenhum sentido prático e seria anti-econômico. Com relação à vacinação, há indícios de que as vacinas inativadas conferem algum efeito na prevenção da transmissão vertical (mãe-filha), porém seu resultado na prevenção do aborto é muito discutível. Portanto, ainda não se sabe sobre as vantagens econômicas de se utilizar vacinas inativadas contra *Neospora caninum* (INNES et al., 2002).

Sendo assim, seria prudente e importante a adoção de medidas efetivas de controle evitando que a doença permaneça cronicamente no rebanho, causando várias conseqüências. Entre as medidas se destacam: no caso de transferência de embrião, uso somente de receptoras soronegativas; redução da exposição de cães a tecidos infectados como placenta e fetos abortados, pois os cães podem infectar-se ao ingerirem carcaças de ovino e restos de placenta de animais infectados, podendo transmitir a infecção; uso de maternidades individuais;

reduzir o número de cães co-habitando com o rebanho; cobrir os alimentos; enviar ao laboratório fetos abortados e placenta para diagnosticar a causa do aborto (MOEN *et al.*, 1998).

É inviável descartar todos os animais soropositivos de uma propriedade com alta soroprevalência. Por outro lado, o descarte de animais soropositivos com histórico de aborto baseado no resultado sorológico de apenas um animal da propriedade também não é uma medida racional, já que muitos animais soropositivos podem ter abortado por outras causas. Novamente, uma avaliação geral da propriedade através de uma análise soroepidemiológica e histórico reprodutivo constituem-se na melhor maneira para iniciar-se um programa de controle e prevenção da doença. Compra de animais com pelo menos dois resultados negativos para *Neospora caninum* (entre outras doenças infecciosas, é claro) também se constitui em uma importante arma preventiva (DUBEY, 2003).

## 1.9 REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; RODRIGUES, A. A. R.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, Amazônia Ocidental brasileira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 616-618, 2004.

ALMERIA, S.; FERRER, D.; PABON, M.; CASTELLA, J.; MANAS, S. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 107, n. 4, p. 287-294, 2002.

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

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

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A.; PIRES, P. P.; SILVA, E. A. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro, *Anais*. Rio de Janeiro., **Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 2002. 1 CD-ROM.

ATKINSON, R.; HARPER, P. A. W.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today, Oxford**, v. 16, n. 3, p. 110-113, 2000.

AZEVEDO, S. S.; BATISTA, C. S. A.; VASCONCELLOS, S. A.; AGUIAR, D. M.; RAGOZO, A. M. A.; RODRIGUES, A. A. R.; ALVES, C. J.; GENNARI, S. M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 79, p. 51-56, 2005.

BARLING, K. S.; MCNEILL, J. W.; THOMPSON, J. A.; PASCHAL, J. C.; MCCOLLUM, F. T.; CRAIG, T.; ADAMS, L. G. Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 9, p. 1356-1360, 2000.

BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; SVERLOW, K. W.; TARANTAL, A. F.; HENDRICKX, A. G. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. **Laboratory Investigation**, v. 71, n. 2, p. 236-242, 1994.

BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands ( 1995 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, n. 2, p. 247-257, 1999.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; HILL, D. E.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; DUBEY, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift Parasitenkund**, v.70, p.271-274, 1984.

BJÖRKMAN, C.; HOLMDAHL, O. J. M.; UGGLA, A. An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 68, n. 3, p. 251-260, 1997.

BRESCIANI, K. D. S.; BELO, M. A. A.; REZENDE, L. M.;CASTAGNOLLI, K. D. S. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães de região urbana de Araçatuba, SP. **Parasitology Research**, 2006 [No prelo].

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

BUXTON, D.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S.; THOMSON, K. M.; RAE, A. G.; INNES, E. A. The pathogenesis of experimental eosporosis in pregnant sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 118, n. 4, p.267-279, 1998.

BUXTON, D.; WRIGHT, S.; MALEY, S. W.; RAE, A. G.; LUNDÉN, A.; INNES, E. A. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. **Parasite Immunology**, v. 23, n. 2, p. 85-91, 2001.

CAÑÓN-FRANCO, W. A.; BERGAMASCHI, D. P.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; SOUZA, S. L. P.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies anti-*Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 115, p. 71-74, 2003.

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

DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **International Journal for Parasitology**, v.29, n. 10, p. 1683-1689, 1999a.

DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. **International Journal for Parasitology**, v.29, n. 8, p. 1189-1194, 1999b.

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

DUBEY, J. P. Neosporosis - the first decade of research. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1485-1488, 1999.

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

DUBEY, J. P.; ACLAND, H. M.; HAMIR, A. N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. **The Journal of Parasitology**, v. 78, n. 3, p. 532-534, 1992.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKÀS, I.; BJÔRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSHI, A. E.; MATTSSON, J. G.; MCALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Rdescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002a.

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

DUBEY, J. P.; HARTLEY, W. J.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **The Journal of Parasitology**, v. 76, n. 1, p. 127-130, 1990a.

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

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

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

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. **Parasitology Research**, v. 86, n. 2, p. 165-168, 2000.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; HILL, D.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O. C. H.; SILVA, J. C. R.; OLIVEIRACAMARGO, M. C.; GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil. **Journal Parasitology**, v.88, n.6, p.1251-1252, 2002.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LIPSCOMB, T. P. Neosporosis in cats. **Veterinary Pathology**, v. 27, n. 5, p. 335-339, 1990.

DUBEY, J. P.; RIGOULET, J.; LAGOURETTE, P.; GEORGE, C.; LONGEART, L.; LENET, J. L. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). **The Journal of Parasitology**, v. 82, n. 2, p. 338-339, 1996b.

FERNANDES, B. C. T. M.; GENNARI, S. M.; SOUZA, S. L. P.; CARVALHO, J.; OLIVEIRA, W. G. O.; CURY, M. C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais - Brazil. **Veterinary Parasitology**, Holanda, v. 123, p. 3340, 2004.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S. O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-Toxoplasma *gongii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 161-166, 2004.

GENNARI, S. M.; I, L. E. O.; D'ÁURIA, S. N. R.; CARDOSO, S. M. S.; KWOK, O. C. H.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of Sao Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 2, p. 177-179, 2002.

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

GENNARI, S. M.; CAÑÓN-FRANCO, W. A.; FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LIMA, V. M. F.; AMAKU, M. Presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães portadores de leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 2006 [no prelo].

GONÇALVES, K. N.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; MELLO, J. H.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Infecção por *N. caninum* em rebanho ovino do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 223, 2004.

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

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1-2, p. 33-39, 2005.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 159-161, 2004.

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

GUIMARÃES JUNIOR, J. S. ***Neospora caninum* em bovinos de exploração leiteira: soroprevalência, fatores de risco e comparação de técnicas sorológicas.** 2002. 119 p. Tese (Doutorado em Veterinária e Zootecnia) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

HARTLEY, W. J.; BRIDGE, P. S. A case of suspected congenital *Toxoplasma* encephalomyelitis in a lamb associated with a spinal cord anomaly. **British Veterinary Journal**, v. 131, n. 4, p. 380-384, 1975.

HÄSSIG, M.; SAGER, H.; REITT, K.; ZIEGLER, D.; STRABEL, D.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 3, p. 213-220, 2003.

HELMICK, B.; OTTER, A.; MCGARRY, J.; BUXTON, D. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. **Research in Veterinary Science**, v. 73, n. 2, p. 187-189, 2002.

HERNANDEZ, J.; RISCO, C.; DONOVAN, A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 5, p. 632-635, 2001.

HUANG, C. C.; YANG, C. H.; WATANABE, Y.; LIAO, Y. K.; OOI, H. K. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). **Veterinary Research**, v. 35, n. 3, p.283-290, 2004.

HUFFMANN, D. C. S. **CINÉTICA, AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO VERTICAL E MONITORAMENTO DA TRANSFERÊNCIA PASSIVA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora sp.* EM EQUÍNOS.** 2007, 91 p. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.  
Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/10591/3/treabalho.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2009.

INNES, E. A.; ANDRIANARIVO, A. G.; BJÖRKMAN, C.; WILLIAMS, D. J. L.; CONRAD, P. A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 11, p. 497-504, 2002.

INNES, E. A.; WRIGHT, S. E.; MALEY, S.; RAE, A.; SCHOCK, A.; KIRVAR, E.; BARTLEY, P.; HAMILTON, C.; CAREY, I. M.; BUXTON, D. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v.31, n. 13, p. 1523-1534, 2001.

JENSEN, L.; JENSEN, T. K.; LIND, P.; HENDRIKSEN, S. A.; BILLE-HANDEN, V. Experimental porcine neosporosis. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 106, n. 4, p. 475-482, 1998.

JESUS, E. E. V.; BARBOSA, M. V. F.; PINHEIRO, A. M.; GONDIM, L. F. P.; GUIMARÃES, J. E.; ALMEIDA, M. A. O. Inquérito sorológico do *Neospora caninum* em cães errantes da cidade de Salvador, Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 28., 2002, Salvador, **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2002. p. 273.

JOLLEY, W. R.; MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; WILLS, R. A. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 3, p. 251-257, 1999.

KOBAYASHI, Y.; YAMADA, M.; OMATA, Y.; KOYAMA, T.; SAITO, A.; MATSUDA, T.; OKUYAMA, K.; FUJIMOTO, S.; FURUOKA, H.; MATSUI, T. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 2, p. 434-436, 2001.

KOYAMA, T.; KOBAYASHI, Y.; OMATA, Y.; YAMADA, M.; FURUOKA, H.; MAEDA, R.; MATSUI, T.; SAITO, A.; MIKAMI, T. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. **The Journal of Parasitology**, v. 87, p. 1486-1488, 2001.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). **The Journal of Parasitology**, v. 76, n. 3, p. 410-413, 1990.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.

LINDSAY, D. S.; STEINBERG, H.; DUBIELZIG, R. R.; SEMRAD, S. D.; KONKLE, D. M.; MILLER, P. E.; BLAGBURN, B. L. Central nervous system neosporosis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n. 4, p. 507-510, 1996.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.

MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; LINDSAY, D. S.; TREES, A. J.; STOBART, R. H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996.

MINEO, T. W. P. **Avaliação do papel de receptores do tipo Toll na resposta imune ao *Neospora caninum***. 2008. Projeto (Programa de Pós-Doutorado Prp: 41) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

MOEN, A. R.; WOUUDA, W.; MUL, M. F. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortions outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. **Theriogenology**, v.49, p.1301-1309, 1998.

OTERO, A. R. S.; JESUS, E. E. V.; SILVA, V. M. G. DA; GONDIM, L. F. P.; ALMEIDA, M. A. O. Evidência sorológica da infecção de ovinos por *Neospora caninum* no Estado da Bahia, Brasil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, 12., 2002, Rio de Janeiro.

OTTER, A.; WILSON, B. W.; SCHOLLES, S. F. E.; JEFFREY, M.; HELMICK, B.; TREES, A. J. Results of a survey to determine whether *Neospora* is a significant cause of ovine abortion in England and Wales. **The Veterinary Record**, v. 140, n. 7, p. 175-177, 1997.

PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, 1998.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora sp.* Infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 7, p. 273-275, 1995.

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

PETERS, M.; LUTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 10, p. 1144-1148, 2001.

PETERSEN, E.; LEBECH, M.; JENSEN, L.; LIND, P.; RASK, M.; BAGGER, P.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A. *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 2, p. 278-280, 1999.

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

ROBERT, R.; TOURTE-SCHAEFER, C.; KLEIN, F. Lack of evidence of *Neospora* infection in humans. **Parasitology International**, v. 47, p. 374, 1998.

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

ROMANELLI, P. R. **Avaliação soroepidemiológica de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em ovinos do município de Guarapuava-Paraná.** 2002 53 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2002.

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

SERRANO-MARTINEZ, E.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; RODRIGUEZ-BERTOS, A.; CASAS-ASTOS, E.; ALVAREZ-GARCIA, G.; CHAVEZ-VELASQUEZ, A.; ORTEGA-MORA, L. M. *Neospora* species-associated abortion in alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Llama glama*). **The Veterinary Record**, v. 155, n. 23, p. 748-749, 2004.

SOUZA, L. M.; NASCIMENTO, A. A.; FURUTA, L. I.; BASSO, L.M. S.; SILVEIRA, D. M.; COSTA, A. J. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. **Semina: Ci. Agrárias**, Londrina, v. 22, n.1, p. 39-48, jan./jun. 2001.

SOUZA, S.L.P.; YAY, L.E.O.; GENNARI, S.M.; D'AURIA, S.R.N.; CARDOSO, S.M.S.; GUIMARÃES Jr, J.S.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, p. 101-103, 2003.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. **Journal of Protozoology**, v. 36, n. 5, p. 458-463, 1989.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P.; MCALLISTER, M. M.; BLIXT, J. A. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1509-1519, 1999.

TRANAS, J.; HEINZEN, R. A.; WEISS, L. M.; MCALLISTER, M. M. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.6, n. 5, p. 765-767, 1999.

TREES, A. J.; DAVISON, H. C.; INNES, E. A.; WASTLING, J. M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1195-1200, 1999.

UGGLA, A.; HILALI, M.; LÖVGREEN, K. Serological responses in *Sarcocystis cruzi* infected calves challenged with *Toxoplasma gondii*. **Research Veterinary Science**, v. 43, p. 127-129, 1987.

WILLIAMS, J. H.; ESPIE, I.; VANWILPE, E.; MATTHEE, A. Neosporosis in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) calf. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 73, n. 1, p. 38-43, 2002.

WILLIAMS, D. J. L.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; GUY, F.; MCGARRY, J. W.; MCKAY, J. S.; TREES, A. J. First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 10, p. 1059-1065, 2003.

WOUDA, W.; BARTELS, C. J. M.; MOEN, A. R. Characteristics of *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, n. 2, p. 233-245, 1999.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M. H.; VAN MAANEN, C.; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1677-1682, 1999.

WOUDA, W.; MOEN, A. R.; SCHUKKEN, Y. H. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. **Theriogenology**, v. 49, n. 7, p. 1311-1316, 1998.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a soro-ocorrência de anticorpos contra *N.caninum* em fêmeas ovinas naturalmente infectadas através da técnica de imunofluorescência indireta, em propriedades rurais localizadas, no norte do Paraná, Brasil.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Analisar fatores determinantes da ocorrência contra *N. caninum* nos rebanhos ovinos estudados, associando o resultado da sorologia às variáveis das propriedades, obtidas através da aplicação de ficha epidemiológica.

**3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO**

### 3.1 Soro-ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovelhas de propriedades rurais localizadas no norte do Paraná, Brasil.

#### Occurrence of serum antibodies against *Neospora caninum* in sheep from farms located in northern Parana, Brazil.

#### RESUMO

O *Neospora caninum* é um protozoário causador de doença de esfera reprodutiva em algumas espécies de animais, causando perdas econômicas em rebanhos de produção. Esta doença está ligada diretamente a problemas reprodutivos, podendo ser transmitida por fêmeas infectadas aos seus descendentes ou através de oocistos eliminados nas fezes de seus hospedeiros definitivos. O objetivo deste trabalho foi estimar a soro-ocorrência de anticorpos contra *N.caninum* em ovinos de propriedades rurais localizadas no norte do Paraná. Foram colhidas 381 amostras de sangue de ovelhas e 25 amostras de sangue canino em 11 propriedades rurais na região norte do Paraná. Utilizou-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para a detecção de anticorpos contra *N.caninum* e considerados positivos os animais que apresentaram títulos  $\geq 50$ . Encontrou-se uma ocorrência em ovinos de 13,91% (10,7% < IC 0,95% < 17,9%) e 36% (18,7% < IC 0,95% < 57,4%) para os cães sororreagentes ao *N.caninum*. Foi observada diferença significativa na associação entre o resultado da sorologia dos ovinos para *N.caninum* e as variáveis “abate animais na propriedade” (P=0,0041; OR=5,27) e “cães com acesso às vísceras” (P=0,0001; OR=1,49).

**PALAVRA-CHAVE:** *Neospora caninum*. Ovinos. Cães. Imunofluorescência indireta. Soro-ocorrência.

## ABSTRACT

The protozoan *Neospora caninum* is a cause of disease of reproductive sphere in some species of animals, causing economic losses in livestock production. This disease is directly linked to reproductive problems and may be transmitted by infected females to their offspring or from oocysts eliminated in the feces of their definitive hosts. The objective was to estimate the occurrence of serum antibodies in sheep *N.caninum* of farms located in northern Paraná. Were collected 381 blood samples from sheep and 25 canine blood samples on 11 farms in northern Paraná. Using the reaction of indirect immunofluorescence (IFA) for detection of antibodies against *N.caninum* considered positive and those that had  $\geq 50$  titles. There was an occurrence of 13.91% in sheep (10.7% <CI 0.95% <17.9%) and 36% (18.7% <CI 0.95% <57.4%) for dogs seropositive to *N.caninum*. Significant difference was observed in the association between the results of serology for the sheep and the variables *N.caninum* "slaughter animals on the property (P = 0.0041, OR = 5.27) and dogs with access to the viscera (P = 0.0001, OR = 1.49).

KEYWORD: *Neospora caninum*. Sheep. Dogs. Indirect immunofluorescence. Serum-occurrence.

### 3.1.1 INTRODUÇÃO

O rebanho ovino no Brasil em 2003 era de 14,5 milhões de cabeças (IBGE, 2009). Nos anos 90 o país chegou a ter 20 milhões de cabeças, mas, devido a uma retração do mercado de lã, houve uma queda no tamanho do rebanho e, atualmente a ovinocultura está em expansão, voltada para a produção em ovinos de corte. A região Sul responde por 31,75%, ficando atrás da região nordeste, que possui 56,56% do rebanho ovino do país. O rebanho ovino paranaense é de 601.704 cabeças, encontrando-se espalhado por todo o Estado, com uma oferta muito instável de animais para abate (IBGE, 2009).

O consumo de carne ovina no Brasil, que hoje é de 700 gramas per capita por ano, vem aumentando, mas ainda está abaixo de países desenvolvidos (GECOMP-UnB, 2004). Apesar disso, a oferta de carne nacional não consegue atender à demanda. Em 2003, o Brasil importou 3.135 toneladas de carne ovina, estima-se que 50 a 90% da carne ovina consumida nos grandes centros sejam importadas (FAO, 2009).

*Neospora caninum*, protozoário do Filo *Apicomplexa*, Família *Sarcocystidae*, subfamília *Toxoplasmatinae* (MUGRIDGE et al., 1999) é hoje reconhecido como importante parasita de bovinos, cães, ovinos, caprinos, eqüinos e cervídeos (BUXTON et al., 1997; DUBEY, 1999).

Bjerkas et al. (1984) observaram um protozoário muito semelhante ao *Toxoplasma gondii*, em cães com sorologia negativa. Dubey et al. (1988a) isolaram e classificaram o parasita em cães nos EUA, denominando-o *Neospora caninum*. O cão foi o primeiro hospedeiro definitivo do *N.caninum* descrito (MCALLISTER et al., 1998). Gondim et al. (2004) observaram que os coiotes também eliminam oocistos pelas fezes sendo os primeiros canídeos selvagens confirmados como hospedeiros definitivos desse agente. Por tal similaridade estrutural e biológica, é possível que, até 1988, o *N.caninum* tenha sido diagnosticado erroneamente como *T.gondii* e se mantido “oculto a luz das investigações científicas” (SOUZA et al., 2001).

Em ovinos, infecções naturais e experimentais têm demonstrado a ocorrência de transmissão vertical e falhas reprodutivas nesta espécie, como morte, reabsorção embrionária, abortamentos, fetos mumificados, natimortos, nascimento de filhotes debilitados ou nascimento de filhotes aparentemente saudáveis, mas congenitamente infectados, dependendo do período de gestação em que a fêmea é infectada (HASSIIG et al., 2003; BUXTON et al., 1997; MCALLISTER et al., 1996). Abortamentos repetidos podem acontecer, a exemplo do que ocorre com vacas (JOLLEY et al., 1999).

Dubey et al. (1990) avaliando um cordeiro recém-nascido que apresentava sintomatologia nervosa e que veio a óbito com uma semana de vida, constataram pela imuno-histoquímica (IHQ) e análise ultraestrutural dos cistos, que se tratava de uma infecção por transmissão vertical do *N.caninum*. Este foi o primeiro relato de *N.caninum* infectando naturalmente a espécie ovina. Kobayashi et al. (2001) constataram um caso de infecção natural pelo *N.caninum* acometendo uma ovelha prenhe e seus dois fetos gêmeos, evidenciando também a transmissão vertical do agente nesta espécie animal.

Entre os métodos de diagnósticos utilizados a Reação de imunofluorescência indireta (RIFI), foi o primeiro teste empregado no diagnóstico da neosporose, em 1988 (DUBEY et al., 1988).

Devido ao fato da ovinocultura ser uma pecuária em evolução no Brasil e em particular na região norte do estado do Paraná é necessário estudos sobre as enfermidades infecciosas e parasitárias que podem afetar o rebanho, particularmente a neosporose, que possui grande importância do ponto de vista econômico. Assim, o levantamento sorológico foi realizado devido à ausência de informações sobre a ocorrência de anticorpos da infecção por *N.caninum* em propriedades rurais localizadas no norte do Paraná.

### 3.1.2 MATERIAL E MÉTODOS

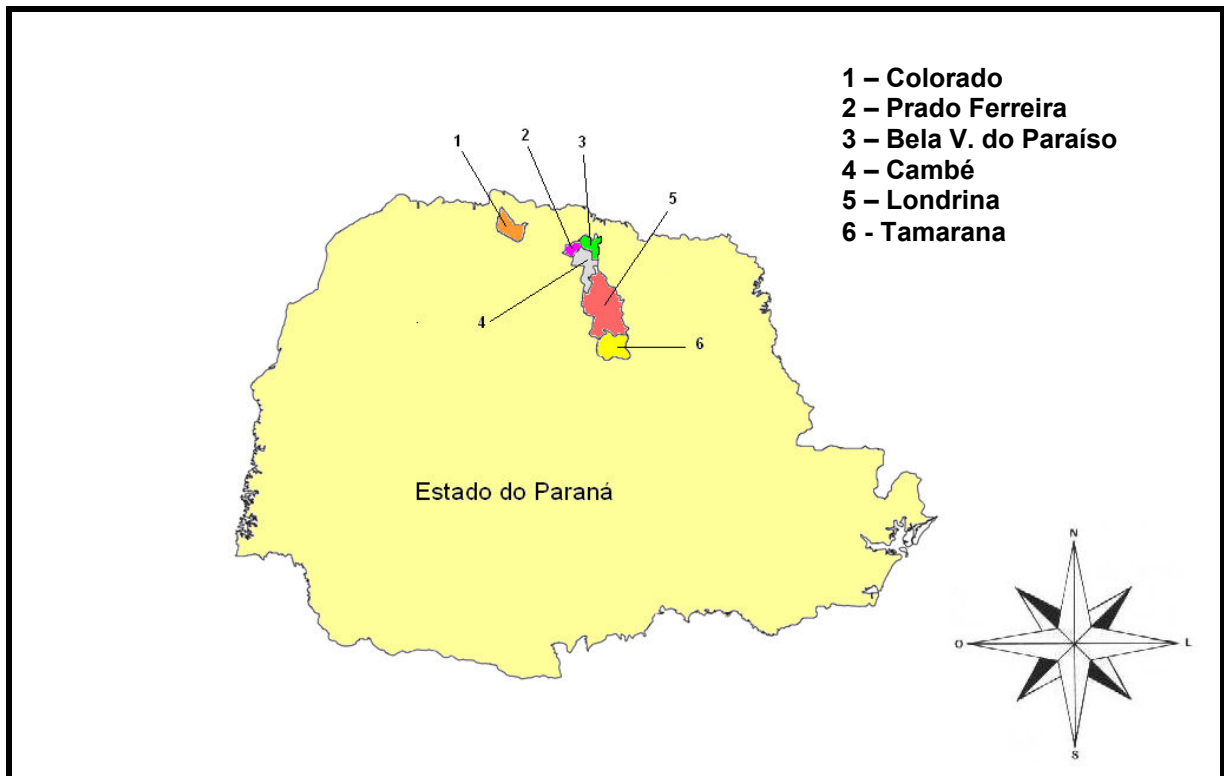
#### 3.1.2.1 População e amostragem

A região estudada no presente trabalho apresenta o tipo climático subtropical temperado, caracterizado por temperaturas médias no inverno inferior a 18°C e no verão, acima de 22°C, com concentração de chuvas, porém sem estação seca definida. Estas condições climáticas apresentam-se como adequadas para manutenção de oocistos de *N.caninum* no meio ambiente, de acordo com Sanderson; Gay e Baszler (2000) os quais afirmam que fatores climáticos, tais como umidade e temperatura, influenciam a esporulação de oocistos de *N.caninum*.

Do total de 1393 animais nas propriedades estudadas, foram colhidas 381 amostras de sangue de ovelhas, no período de novembro de 2007 a janeiro de 2008, provenientes de 11 propriedades rurais, localizadas em seis municípios da região norte do Paraná. O critério para inclusão destas propriedades foi à presença de cadastro no núcleo regional da Secretaria da Agricultura Pecuária e Abastecimento (SEAB) de Londrina. Os Núcleos Rurais estão representados na figura 1.

O tamanho da amostra foi calculado utilizando o programa EPI-INFO-6,4 (DEAN et al., 1994) com prevalência estimada em 50%, erro de 5% e intervalo de confiança de 95%.

Também foram colhidos sangue de 25 cães que habitam nestas propriedades conforme quadro 3.



**Figura 1** – Distribuição geográfica dos municípios estudados, na região norte do estado do Paraná.

**Quadro 3** – N° de propriedades e respectivos rebanhos e amostras utilizados no estudo.

Propriedades	N° Animais (ovinos)	N° ovinos da amostra	N° Cães da amostra
1	180	31	2
2	54	16	1
3	83	15	1
4	43	11	1
5	380	102	4
6	38	10	0
7	45	10	2
8	225	68	4
9	38	15	2
10	90	58	0
11	217	45	8
<b>Total</b>	<b>1393</b>	<b>381</b>	<b>25</b>

### 3.1.2.2 Colheita de amostras

As amostras de sangue dos ovinos e cães foram colhidas por venocentese jugular, com o animal em estação, utilizando-se agulhas descartáveis 40x12, e tubos de ensaio devidamente identificados. Após a retração do coágulo, os soros foram acondicionados em tubos tipo “ependorf”, identificados e mantidos a temperatura de -18°C até a realização dos testes sorológicos.

### 3.1.2.3 Variáveis estudadas

O estudo envolveu a colheita de amostras de sangue de ovinos, e dos cães presentes nas propriedades. Além disso, durante o período de colheita foi aplicado um questionário (ficha epidemiológica) em cada uma das propriedades, tendo sido entrevistado o proprietário ou o responsável (anexo 1). O questionário abordou aspectos epidemiológicos ligados ao agente, presença de cães na propriedade, histórico de abortamentos, sistema de manejo, alimentação dos ovinos e cães.

### 3.1.2.4 Exame sorológico

As amostras foram analisadas pela técnica de reação imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos IgG anti-*N.caninum*, (CONRAD et al., 1993). Foi utilizado conjugado anti-IgG ovino previamente padronizado na diluição 1:900

Inicialmente foi realizada uma triagem dos soros na diluição 1:25 (JOLLEY et al., 1999; HELMICK et al., 2002). As amostras positivas para *N.caninum* foram novamente testadas em diluições sequenciais na base dois até 1:6400 para ovinos e 1:1600 para cães, sendo que estes últimos títulos que apresentaram fluorescência periférica completa. A leitura foi realizada em microscópio epifluorescente utilizando objetiva de 40 vezes. Consideraram-se positivas àquelas amostras com títulos  $\geq 50$  em ovinos e cães sendo consideradas positivas somente aquelas amostras nas quais os taquizoítos apresentaram fluorescência periférica total (PARÉ et al., 1995).

### **3.1.2.5 Análise estatística**

As variáveis foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ) com nível de significância de 5% e o teste exato de Fisher. O programa Epi info versão 6,04b (CDC-Atlanta) foi usado para cálculo das associações considerando um  $P \leq 0,05$  como significativo.

### **3.1.3 RESULTADOS**

#### **3.1.3.1 Resultados do estudo epidemiológico**

Foram estudadas 11 propriedades na qual, a área das propriedades foi bastante heterogênea, variando de 5 a 1300 ha.

Em 57% das propriedades a atividade principal foi à pecuária e 43% é mista (pecuária e agricultura). Em relação ao sistema produtivo, 100% das propriedades dedicaram-se à ovinocultura de corte, com 94,5% adotando sistema semi-intensivo de manejo e 5,5% o sistema extensivo. O número total de animais no rebanho, variou de 38 a 380 animais.

Em 72,7% das propriedades foram abatidos animais na propriedade.

A presença de cães foi relatada por 81,8% das propriedades. Nas propriedades onde havia presença de cães, 72,7% eram criados soltos e 27,3% criados presos. Relatou-se ainda a presença de outros canídeos em 27,3% das propriedades. Em nove das 11 propriedades foram observadas a presença de cães, com um número médio de 2,3 cães por propriedade.

Em 27,3% (3) das propriedades os cães recebiam como alimento, resto de comida caseira. Em 7 (63,7%) propriedades foi relatado que os cães tinham acesso às vísceras de animais abatidos.

Quanto aos problemas reprodutivos, em 100% das propriedades ocorreu abortamento nos últimos 12 meses. Em 26,8% dos abortamentos ocorreram no terço inicial da gestação e 66,7% no terço final da gestação. A frequência dos problemas reprodutivos em 75,6% das propriedades ocorreram entre a 2<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> cria e 24,4% ocorreram na 1<sup>a</sup> cria.

### 3.1.3.2 Resultados dos exames

Das 381 amostras de sangue ovinos processados e analisados pela RIFI, 53 (13,91%) foram soro-positivas com título  $\geq 50$  (10,7% < IC 0,95% < 17,9%) (Tabela 2).

Entre os ovinos soropositivos o título de maior frequência foi de 200 (30,20%), seguido dos títulos: 50 (28,30%), 100 (18,90%), 400 (7,50%), 800 (5,70%), 1600 (3,80%), 3200 (3,80%) e 6400 (1,9%) (Tabela 3). Entre os ovinos estudados, das 11 propriedades 9 (81,82%) possuíam ao menos um animal positivo para *N.caninum* e apenas 2 (18,18%) eram negativas (Tabela 2).

Das 25 amostras de soros dos cães coletadas e analisadas pela RIFI, 9 (36%) foram positivas para *N.caninum* com título  $\geq 50$  (18,7% < IC 0,95% < 57,4%).

Entre os cães soropositivos o título de maior frequência foi de 100 (33,40%), seguido dos títulos: 200 (22,20%), 400 (22,20%), 50 (11,10%) e 1600 (11,10%) (Tabela 4).

Foi observada diferença significativa na associação entre o resultado da sorologia dos ovinos para *N.caninum* e as variáveis “abate animais na propriedade” (P=0,0041; OR=5,27) e “cães com acesso às vísceras” (P=0,0001; OR=1,49).

### 3.1.4 DISCUSSÃO

Este estudo foi o primeiro inquérito realizado com ovinos em propriedades no norte do Paraná, apresentando uma maior ocorrência de anticorpos (13,91%) em comparação aos (9,5%) encontrado por (ROMANELLI et al., 2002) na região centro-oeste do Paraná. Ressalta-se neste trabalho, ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* em ovinos acima da encontrada em trabalhos realizados nas regiões Sul e Sudeste do Brasil.

Helmick et al. (2002) no Reino Unido detectaram apenas 3 animais (0,45%), de um total de 660 ovelhas com histórico de abortamento, Bartová et al. (2008) analisando 547 amostras de soro ovino na República Checa obtiveram 12% de positivos.

No Brasil os estudos sorológicos da infecção pelo *N.caninum* em ovinos têm demonstrado índices de soropositividade variáveis nos vários estados da federação. Romanelli et al. (2002) no Paraná, Otero et al. (2002) na Bahia, Figliuolo et al.(2004) em São Paulo, Aguiar et al. (2004) em Rondônia e Vogel et al.(2006) no Rio Grande do Sul, encontraram 9,5%, 7,4%, 9,2%, 29% e 3,2% de animais sororeagentes respectivamente.

A comparação de prevalência entre trabalhos que utilizam diferentes testes sorológicos com variados pontos de corte não é confiável, uma vez que ocorrem diferenças na sensibilidade e especificidade dos testes (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

No estudo observou-se que 9 (81,82%) das 11 (100%) propriedades foram sororreagentes ao *N.caninum*. Figliuolo et al. (2004), em 30 propriedades estudadas, observaram que 86,6% apresentavam animais sororeagentes a RIFI. Estes valores são de difícil comparação, pois no estudo realizado em São Paulo, as propriedades possuíam na sua maioria, criações tecnificadas com alta produção animal, enquanto que neste estudo, as propriedades desenvolviam agricultura do tipo familiar, com os animais criados na sua maioria para consumo próprio.

As propriedades estudadas demonstraram que a difusão deste agente é elevada em rebanhos ovinos da região pesquisada, com uma ocorrência que variou de 1,7 a 32,3%. Foi constatada a presença de cães em nove das 11 propriedades, sendo que destas, a propriedade que possuía mais de um cão positivo, foi a que apresentou a maior prevalência nos ovinos (32,3%). Tais observações são validadas pelo fato dos cães serem o hospedeiro definitivo do *N.caninum*, e conseqüentemente, responsáveis pela manutenção do agente nos rebanhos, através da transmissão do agente pela via horizontal. Muito embora muita das propriedades que possuíam o cão presente não foi revelada sorologia positiva ao *N.caninum*. Outros fatores de natureza epidemiológicos possam estar envolvidos como presença de outros possíveis reservatórios no meio rural.

Os títulos mais freqüentes foram 200, 50 e 100, iguais aos observados por (FIGLIUOLO et al., 2004).

Apenas em quatro propriedades foram encontrados cães sororreagentes enquanto em duas propriedades não foram encontrados ovinos nem caninos sororreagentes. Em três propriedades onde foram detectados ovinos sororreagentes ao *N.caninum* todos os cães foram soronegativos, o que sugere a transmissão

vertical do parasita aos ovinos (BUXTON et al., 1997); embora cães errantes de propriedades vizinhas e mesmo da cidade, apareçam frequentemente no meio dos rebanhos.

Foram observadas diferenças significativas na associação entre a sorologia do *N.caninum* dos ovinos e as variáveis relacionadas ao “abate animais na propriedade” ( $P=0,0041$ ;  $OR=5,27$ ) e “cães com acesso às vísceras” ( $P=0,0001$ ;  $OR=1,49$ ). Fernandes et al. (2002), em Uberlândia, Minas Gerais, trabalhando com cães de origem urbana, periurbana e rural, encontraram maior ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* nos cães do meio rural, e atribuíram este achado à presença dos bovinos e à possibilidade desses cães se alimentarem com restos de placentas e fetos abortados.

Todos esses achados elucidam a importância do cão na epidemiologia do agente e apontam a necessidade de, em estudos de epidemiologia, os cães e os ovinos serem contemplados.

Na propriedade onde havia maior ocorrência de ovinos positivos (32,3%), constatou-se uma ocorrência de 100% dos cães para *N.caninum*.

A principal forma de transmissão da neosporose em animais de produção é a transmissão vertical, ou seja, as fêmeas que sobrevivem à infecção congênita perpetuam o parasita por toda a sua vida, transmitindo-o para seus descendentes, (BARTELS et al., 1999; ANDERSON et al., 2000). Apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre a “presença de cães” e a ocorrência do *N.caninum* em ovinos ( $P=0,059$ ;  $OR=3,36$ ), a ocorrência de cães soropositivos, chamam à atenção para uma possível transmissão horizontal nas quatro propriedades encontradas. Outros estudos mostram não haver associação positiva e “presença de cães” (FIGLIUOLO et al., 2004).

Neste estudo, não ocorreu associação entre sorologia do *N.caninum* e as variáveis relacionadas ao “tamanho da propriedade” ( $P=0,0001$ ), “tipo criação” ( $P=0,20$ ), “frequência problemas reprodutivos” ( $P=0,84$ ) e “fase gestação acometidas” ( $P=0,0011$ ); o que vem ao encontro do relatado por Barling et al. (2001), em animais de corte no Texas.

Apesar de em nove das 11 propriedades terem sido observadas a presença de cães, com um número médio de 2,3 cães por propriedade, as variáveis estudadas referentes à “presença de cães” na propriedade ( $P=0,059$ ), “como os cães

são criados” ( $P=0,81$ ) e “presença de outros canídeos” ( $P=0,156$ ); não mostraram associação, estando em acordo com os resultados relatados por (UENO, 2005).

### 3.1.5 CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos neste estudo pode-se inferir que:

- Resultados sorológicos indicam a ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* presentes em rebanhos ovinos de propriedades da região norte do estado do Paraná, com ocorrência de anticorpos de 13,91%.
- Os cães estudados apresentaram ocorrência de 36% para *N.caninum*.
- As variáveis “abate animais na propriedade” e “cães com acesso às vísceras” têm correlação positiva em relação à ocorrência da neosporose em ovinos.

**Tabela 1** – Ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* (RIFI-IgG) em soros de ovinos e cães, em 11 propriedades rurais localizadas no norte do Paraná, Brasil, 2009.

propriedades	N° de ovinos		N° de cães	
	Amostra analisada	Sororreagentes %	Amostra analisada	Sororreagentes %
1	31	0 (0)	2	0 (0)
2	16	4 (25)	1	0 (0)
3	15	2 (13,3)	1	0 (0)
4	11	1 (9,1)	1	1 (100)
5	102	4 (3,9)	4	0 (0)
6	10	3 (30)	0	0 (0)
7	10	0 (0)	2	0 (0)
8	68	22 (32,3)	4	4 (100)
9	15	3 (20)	2	1 (50)
10	58	1 (1,7)	0	0 (0)
11	45	13 (28,9)	8	3 (37,5)
<b>Total</b>	<b>381</b>	<b>53 (13,91%)</b>	<b>25</b>	<b>9 (36%)</b>

**Tabela 2** – Distribuição das ocorrências de títulos de anticorpos obtidos pela reação de imunofluorescência indireta em ovinos no norte do Paraná, Brasil, 2009.

<b>Título</b>	<b>Nº de amostras positivas</b>	<b>Ocorrência %</b>
50	15	28,3
100	10	18,9
200	16	30,2
400	4	7,5
800	3	5,7
1600	2	3,8
3200	2	3,8
6400	1	1,9
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>13,91</b>

**Tabela 3** – Distribuição das ocorrências de títulos anticorpos obtidos pela reação de imunofluorescência indireta em cães no norte do Paraná, Brasil, 2009.

<b>Título</b>	<b>Nº de amostras positivas</b>	<b>Ocorrência %</b>
50	1	11,1
100	3	33,4
200	2	22,2
400	2	22,2
1600	1	11,1
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>36</b>

**Tabela 4** – Associação entre as variáveis estudadas com a soropositividade dos ovinos ao *N.caninum* (IFI-IgG) em 11 propriedades no norte do Paraná, Brasil, 2009.

<b>Variáveis</b>	<b>Animais Soro reagentes</b>	<b>Animais não reagentes</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>IC(95%) OR</b>
<b><u>Manejo</u></b>					
<b>Tamanho Propriedade</b>					
Pequena (até 10 alq.)	26	0			
Média (11 a 100 alq.)	299	0	0,0001	-	-
Grande (acima de 100alq.)	15	41			
<b>Tipo Criação</b>					
Pecuária intensiva	0	0			
Pecuária semi-intensivo	319	41	0,20	0,89	0,85<OR<0,92
Pecuária extensiva	21	0			
<b><u>Problema Sanitário referente à propriedade</u></b>					
<b>Abate animais na propriedade</b>					
Sim	128	159			
Não	11	72	0,0041	5,27	2,56<OR<11,08
<b>FrequênciaProblemas Reprodutivos</b>					
Primeira cria	83	10			
De segunda à quinta cria	255	31	0,84	0,98	0,44<OR<2,30

**Fase gestação acometidas**

Primeiro terço	102	0			
Segundo terço	25	0	0,0011	-	-
Terço final	213	41			

**Presença de outros**  
**animais**

**Cães na propriedade**

Presença	50	273	0,059	3,36	0,95<OR<14,16
Ausência	3	55			

**Cães acesso à vísceras**

Sim	256	0			
Não	84	41	0,00001	1,49	1,32<OR<1,68

**Cães criados**

Soltos	267	31			
Presos	73	10	0,81	1,18	0,51<OR<2,67

**Outros canídeos**

Presença	17	70			
Ausência	36	258	0,156	-	-

---

### 3.1.6 REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; RODRIGUES, A. A. R.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, Amazônia Ocidental brasileira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 616-618, 2004.

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

BARLING, K. S.; McNEILL, J. W.; PASCHAL, J. C.; McCOLLUM III, F. T.; CRAIG, T. M.; ADAMS, L. G.; THOMPSON, J. A. Ranch - management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, n. 1, p. 53-61, 2001.

BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands ( 1995 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, n. 2, p. 247-257, 1999.

BARTOVÁ, E.; SEDLÁK, K.; LITERÁK, I. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in sheep in the Czech Republic. University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Palackého 1/3, 612 42 Brno, Czech Republic. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 131-132, 2008.

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift Parasitenkunde**, v.70, p.271-274, 1984

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1497-507, 1999.

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

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

DEAN, G. A.; DEAN, A. J.; COULOMBIER, D.; BRENDDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K. M.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. – Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, **Center for Diseases Control and Prevention**, 1994.

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

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

DUBEY, J. P.; SONN, R. J.; HEDSTROM, O.; SNYDER, S. P.; LASSEN, E. D. Serologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortions in sheep in Oregon. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 291-294, 1990.

FAO. **Statistical Databases. Agricultural Data.** Disponível em: <[HTTP://faostat.fao.org/faostat/collections? version](http://faostat.fao.org/faostat/collections?version)>. Acesso em: 10 fev 2009.

FERNANDES, B. C. T. M.; GENNARI, S. M.; SOUZA, S. L. P.; CARVALHO, J.; OLIVEIRA, W. G. O.; CURY, M. C. Freqüência de anticorpos anti-*N.caninum* em cães das áreas urbana, periurbana e rural da região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. CD-ROM.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S. O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 161-166, 2004.

GECOMP-UnB. **Análise econômica da ovinocultura no DF. Sistema de referência para apoio à tomada de decisão na cadeia produtiva- produtores rurais e frigoríficos.** Brasília: Grupo de Estudos sobre a Competitividade e Sustentabilidade do Agronegócio da Universidade de Brasília, 2004. 83p. Relatório final.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 159-161, 2004.

HÄSSIG, M.; SAGER, H.; REITT, K.; ZIEGLER, D.; STRABEL, D.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 3, p. 213-220, 2003.

HELMICK, B.; OTTER, A.; MCGARRY, J.; BUXTON, D. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. **Research in Veterinary Science**, v. 73, n. 2, p. 187-189, 2002.

IBGE. **Banco de Dados Agregados.** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>. Acesso em 05 jan 2009.

JOLLEY, W. R.; MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; WILLS, R. A. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 3, p. 251-257, 1999.

KOBAYASHI, Y.; YAMADA, M.; OMATA, Y.; KOYAMA, T.; SAITO, A.; MATSUDA, T.; OKUYAMA, K.; FUJIMOTO, S.; FURUOKA, H.; MATSUI, T. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 2, p. 434-436, 2001.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.

MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; LINDSAY, D. S.; TREES, A. J.; STOBART, R. H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996.

MUGRIDGE, N. B.; MORRISON, D. A.; HECKEROTH, A. R.; JOHNSON, A. M.; TENTER, A. M. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *N.caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p.1545-1556, 1999.

OTERO, A. R. S.; JESUS, E. E. V.; SILVA, V. M. G. DA; GONDIM, L. F. P.; ALMEIDA, M. A. O. Evidência sorológica da infecção de ovinos por *Neospora caninum* no Estado da Bahia, Brasil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, 12., 2002, Rio de Janeiro.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora sp.* Infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 7, p. 273-275, 1995.

ROMANELLI, P. R. **Avaliação soroepidemiológica de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em ovinos do município de Guarapuava-Paraná.** 2002 53 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2002.

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

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. **Veterinary Parasitology**, v. 80, n. 2, p. 87-98, 1998.

SOUZA, L. M.; NASCIMENTO, A. A.; FURUTA, L. I.; BASSO, L. M. S.; SILVEIRA, D. M.; COSTA, A. J. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. **Semina: Ci. Agrárias**, Londrina, v. 22, n.1, p. 39-48, jan./jun. 2001.

UENO, T.E.H. **Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil.** 2005 107 pp. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

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

YAMANE, I.; KOKUHO, T.; SHIMURA, K.; et al In Vitro isolation and characterization of bovine *Neospora* species in Japan. **Research Veterinary Science**, v. 63, p. 77-80, 1997.

## APÊNDICE

## APÊNDICE A –

## FICHA EPIDEMIOLÓGICA - NEOSPOROSE

Propriedade n°= \_\_\_\_\_

Data: / /

Entrevistado

Nome/Função: \_\_\_\_\_

Proprietário: \_\_\_\_\_ Fone \_\_\_\_\_ para  
contato: \_\_\_\_\_**1. Dados gerais sobre a propriedade:**

Endereço/Município: :

Localização:

**Tamanho (hectare/alqueire):****1.2 Atividade principal:** pecuária  agricultura  mista**2. Dados epidemiológicos referentes à Toxoplasmose:**

2.1 Números de pessoas que moram na propriedade:

Adultos: ( > 18 anos ) ( ) Adolesc: ( > 12 a 18 anos ) ( ) Crianças: ( 0 a 12  
anos ) ( )**2.2 Presenças de roedores:** sim  não  silvestre**2.3 Observados em:** depósito de ração  curral  residência  outros não sabe**2.4 Presenças de gatos:**  sim  não  não sabe

N° de animais \_\_\_\_\_

**2.5 Os gatos têm acesso a:** depósito de ração  feno  silagem  curral pastagem  sala de ordenha  outros**2.6 Abastecimento de água (homem):** rede pública  poço convencional  mina  Poço artesiano



Qual o teste	Título		
2.24 Leptospirose	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> não sabe

Qual o teste?	Título
---------------	--------

2.25 Outros:

Qual o teste?	Título
---------------	--------

### 3. Dados epidemiológicos referentes à Neosporose:

3.1 Presenças de cães na propriedade:  sim  não N° de animais (-----)

3.2 Presenças de outros canídeos:  sim  não  não sabe

3.3 Os cães são criados:  soltos continuamente  soltos parcialmente  presos

3.4 Têm acesso a:  curral  pastagens  depósito de ração  feno  
 silagem  sala de ordenha

### 4. Dados sobre a criação ovina (Neosporose):

4.1 Tipo de exploração:  Pecuária intensiva  Pecuária semi-intensiva

Pecuária extensiva  Pecuária mista (corte/lã)

4.2 Características raciais dos animais:  europeu  mestiço

4.3 Raça predominante:  \_\_\_\_\_  Outros

4.4 Alimentação volumosa:  pastagem  forrageira  feno

4.5 Alimentação controlada:  ração comercial  ração produzida na propriedade

4.6 Suplementação mineral:  sal comum  sal comum + mineral  nenhuma

4.7 Número de animais:  0 a ---meses  ----a----meses  reprodutores  matrizes

4.8 Problemas reprodutivos:  abortamento  repetição de cio  natimortos

recém nato debilitado  ausência de cio  não sabe  nenhum problema

outros. Quais:

4.9 Frequência dos problemas reprodutivos ( cria ):  primeira  segunda

após 5ª  todas  sem problema reprodutivo

4.10 Fase da gestação acometida:  terço inicial  terço médio  terço final

não sabe

**4.11 O problema foi diagnosticado:** ( ) sim ( ) não Qual:

**4.12 Problemas neurológicos com cordeiros:** ( ) membros flexionados ( ) membros hiperextendidos

( ) ataxia ( ) exoftalmia ( ) assimetria ocular ( ) nenhum ( ) outro

**5. Dados sobre a criação canina (Neosporose):**

**5.1 Qual o tipo de alimento consumido:** ( ) resto de comida ( ) ração

( ) vísceras de animais abatidos ( ) abortamentos

**5.2 Problemas neurológicos:** ( ) paresia de membros ( ) ataxia

( ) rigidez com membros esticados ( ) morte súbita ( ) outro ( ) não sabe

**5.3 Problemas respiratórios:**

( ) sim. Qual? ( ) não ( ) não sabe

**6. Vacinas**

**6.1 Animais foram vacinados**

( ) sim ( ) não ( ) não sabe

**6.2 Se vacinados quais as vacinas usadas e quando isto ocorreu (mês e ano)**

**Obs: especificar bem, pois é importante quando da interpretação da sorologia.**