Levantamento sorológico de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em amostras de cães domiciliados na cidade de Cruz das Almas – Ba

PHILIPE BRITO DE OLIVEIRA

PHILIPE BRITO DE OLIVEIRA

Levantamento sorológico de anticorpos IgG anti- <i>Neospora caninur</i>	<i>n</i> em
amostras de cães domiciliados na cidade de Cruz das Almas – E	la l

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro

FICHA CATALOGRÁFICA

O481

Oliveira, Philipe Brito de Oliveira.

Levantamento sorológico de anticorpos IgG anti-*Neospora* caninum em amostras de cães domiciliados na cidade de Cruz das Almas – BA: *Neospora* sp. em cães / Philipe Brito de Oliveira. Cruz das Almas, BA, 2014.

46f.; il.

Orientador: Alexandre Moraes Pinheiro.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Cães — Doenças parasitárias — Diagnóstico. 2.Animais domésticos — Parasitologia veterinária. 3.Neospora caninum — Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA

COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE

PHILIPE BRITO DE OLIVEIRA

LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE ANTICORPOS IGG ANTI-NEOSPORA CANINUM EM CÃES NA CIDADE DE CRUZ DAS ALMAS – BA

> Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

> MSc. Angela Cristina de Oliveira Lima Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

> Prof. Dr. Robson derqueira Bahia Universidade Federal de Recôncavo da Bahia

> > Cruz das Almas, 24 de fevereiro de 2014.

"À Deus, pela essência do universo Aos Animais, pelo respeito à vida."

> "Grandes coísas não se fazem por ímpulso, mas pela junção de uma série de pequenas coísas."

> > (Vincent van Gogh)

AGRADECIMENTO

A Deus, por guiar meus passos, pela infinita bondade, pela realização de um sonho: ser Médico Veterinário.

A minha mãe, pelo amor, compreensão, atitude, educação e principalmente por acreditar.

Ao meu orientador, Profo Dr. Alexandre Moraes Pinheiro pela atenção e dedicação, que forneceu orientações seguras por todo período de graduação.

Aos docentes, àqueles que motivaram e acreditaram.

A professora Ana Elisa da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), pela gentileza em fornecer informações sempre que precisei, além de ensinamentos valiosos.

Às companheiras (Ângela, Bianca, Cintia, Carol, Diana e Luciana) do Laboratório de Bioquímica e Imunologia Veterinária/UFRB, meus sinceros agradecimentos pela parceria de sempre, pelo crescimento que batalhamos juntos.

Aos voluntários que auxiliaram na coleta de sangue, e os proprietários que forneceram seus animais.

À Médica Veterinária Roberta Macêdo, por conceder meu primeiro estágio de graduação, e ainda, por incentivar a todo instante.

A UNESP (Jaboticabal) e EMEV-UFBA, por nos receberem nos estágios extracurriculares, momento este de grande valia pra formação profissional.

Aos amigos, Ana Carolina, Lorena Aguiar, Raísa Araújo, e Valdir Carneiro, pela atenção, carinho e, sobretudo por me encorajar.

Aos amigos (Bruno, Diego, Fábio, Marcos, Patrick e Roberto) da "República Las Vegas", por manter a união, irmandade, e ainda, por incentivarem seguir em frente buscando os objetivos.

As irmãs do coração: Rita Roxane e Simone Barreto que sempre me incentivaram a lutar pelos meus sonhos.

Aos amigos e irmãos de A igreja de Jesus Cristo dos Santos dos Últimos Dias (SUD), pela solidariedade e companheirismo.

Aos colegas e amigos de turma, por todos momentos (bons e ruins) que soubemos juntos lutarmos por dias melhores.

Por fim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Neospora caninum é um protozoário intracelular obrigatório que pertence ao Filo Apicomplexa e é o agente causador da neosporose. Essa doença tem distribuição mundial e causa distúrbios reprodutivos e alterações neurológicas em várias espécies. Apresenta os canídeos como hospedeiros definitivos e bovinos, bubalinos, caprinos e ovinos como hospedeiros intermediários. Estudos de prevalência de anticorpos anti-N. caninum em cães tem sido realizado em vários países, inclusive no Brasil, com índices que variam de 4,8% a 68%. O objetivo deste trabalho foi a realização de um levantamento sorológico de anticorpos IgG anti-Neospora caninum em amostras de cães domiciliados na cidade de Cruz das Almas/BA, utilizando a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) e aplicação de questionário epidemiológico. Dos cães examinados, 46% (46/100) foram positivos no ponto de corte de 1:50. A avaliação dos questionários epidemiológico, mostrou que a idade média dos animais era de 4 anos e que 43,48% (20/46) dos cães não apresentavam raça definida. Quando se analisou o tipo de dieta dos animais positivos, verificou-se que 28,26% (13/46) comiam apenas ração, 36,95% (17/46) comida caseira e 34,78 (16/46) dieta mista. Entretanto ao analisar a utilização de comida caseira verificou-se que 71,7% (33/46) dos animais com a utilização desta dieta eram positivos. Observou-se também que 80.4% (37/46) dos cães positivos tinham acesso a rua. Isso indica que os hábitos de vida dos animais são fatores de risco para a doença. Estudando o gênero dos animais, verificou-se maior proporção de fêmeas sororeagentes 60,87% (29/46) sobre a de machos 39,13% (18/46). Este estudo demonstra que o N. caninum está presente em cães domiciliados na área urbana de Cruz das Almas/BA e que a utilização de comida caseira, acesso a rua e o gênero feminino foram considerados como fatores de risco para os animais utilizados nesse estudo.

Palavras Chave: neosporose, cães e fatores de risco.

ABSTRACT

Neospora caninum is an obligatory intracell protozoan which belong to the Phylum Apicomplexa, and is the causative agent of neosporosis. This disease has a worldwide distribution, causes reproductive disorders and neurological changes in several species. It presents dogs as definite hosts, and bovine, buffalo, caprine and ovine animals as intermediate hosts. Prevalence studies on anti-N. caninum antibodies in dogs has been evaluated in many countries, even in Brazil, with indices ranging from 4,8% to 68%. The present work had as objective to conduct a serological survey of anti-Neospora caninum IgG antibodies in dogs, in the city of Cruz das Almas-BA, by using the technique of Indirect Immunofluorescence (IFI) and applying an epidemiological guestionnaire. From the total of the examined dogs, 46% (46/100) have shown positive results in the IFI test with a cut off of 1:50. From assessment of the epidemiological questionnaire, it was noted that the average age of the animals was 4 years, another feature observed was that 43,48% (20/46) were mongrel dogs. When examining the type of diet of the positive animals, it was found that 28.26% (13/46) eating only food, 36.95% (17/46) and 34.78 cooked food (16/46) mixed diet. However when considering the use of homemade food it was found that 71,7% (33/46) with the use of animals this diet were positive. It was also noted that 80,4% (37/46) of the positive dogs had access to street. It is indicates that the habits of life these animals are related to risk factors for the disease. By studying the gender of the animals, a higher proportion of reactant serum females 60,87% (29/46) over the male proportion 39,13% (18/46). This study demonstrates that N. caninum is present in dogs of the urban area of Cruz das Almas/BA and that the use of homemade food, access to street and females were considered as risk factors for animals used in this study.

Keywords: neosporosis, dogs and risk factors.

SUMÁRIO

$\overline{}$,				
Ρ	а	n	ı	r	เล
	u	ч	ı		ı

1.0 INTRODUÇÃO	1
2.0 OBJETIVO	3
2.1 Objetivo geral	
3.0 REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 AGENTE ETIOLÓGICO	5 8
3.5 DIAGNÓSTICO	10 12 14
4.0 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 ÁREA DE ESTUDO 4.2 AMOSTRAS 4.3 CULTIVO DE <i>NEOSPORA CANINUM</i> 4.4 PREPARO DE LÂMINAS DE IFI 4.5 REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI) 4.6 QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO	19 20 20 21
5.0 RESULTADOS	22
5.1 REAÇÕES DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	
6.0 DISCUSSÃO	24
7.0 CONCLUSÃO	26
8.0 BIBLIOGRAFIA	27
9.0 APÊNDICE A	36

1.0 INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário apicomplexa que tem o cão como hospedeiro definitivo e os bovinos, entre outros mamíferos e aves como hospedeiros intermediários. Esse parasito foi descrito pela primeira vez por BJERKAS et. al.(1984) na Noruega, quando uma ninhada de filhotes de cães apresentou miosite e mieloencefalite evoluindo, em pouco tempo, para uma paresia ascendente nos membros, caracterizando a doença neosporose.

A neosporose é uma patogenia importante do trato reprodutivo de bovinos, causando abortos, nascimentos imaturos e mortalidade neonatal. Seu impacto na indústria de leite fez com que pesquisadores em todo o mundo estudassem essa doença, devido as perdas econômicas com fetos abortados (DUBEY, 2003). Em algumas regiões do mundo, mais de 42,5% dos abortos são atribuídos a neosporose (ANDERSON et al., 1991).

O cão desempenha grande importância na epidemiologia da neosporose por ser hospedeiro definitivo deste protozoário. Essa importância foi confirmada na década de 90 após constatação da eliminação de oocistos por cães (McALLISTER et al., 1998). Segundo GONDIM et al., 2004, o cão e o coiote eliminam oocistos após a ingestão de tecidos ou órgãos dos hospedeiros intermediários. Dessa forma, os canídeos desempenham um fator de risco confirmado na transmissão da infecção para os rebanhos bovinos, causando perdas na produção de leite e carne, e de outros hospedeiros intermediários na manutenção da neosporose (BASSO et al., 2001).

A soroprevalência para o *N. caninum* em cães tem sido avaliada em vários países, inclusive no Brasil. Esses estudos apresentam diferentes valores de prevalência que variam de acordo com o habitat dos animais, convívio com bovinos e a técnica sorológica empregada (CAÑON-FRANCO et al., 2003). A ocorrência de anticorpos anti- *N. caninum* em cães de área rural já foi relatada em diversos países e mais recentemente tem-se estudado a ocorrência em cães de áreas urbanas (DUBEY et al., 1990).

Considerando a importância dos canídeos domésticos na manutenção da neosporose e a distribuição mundial do parasito, *o*bjetiva-se neste estudo realizar um levantamento dos anticorpos IgG anti *N. caninum* em cães, criados no município

de Cruz das Almas-BA, e com esses dados informar aos Médicos Veterinários e proprietários sobre a importância da presença do parasito causador de doença neurológica em cães domésticos, além disso alertar sobre as medidas de controle e tratamento da doença, evitando assim maiores prejuízos a saúde animal.

2.0 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Realizar levantamento sorológico de anticorpos IgG anti-Neospora caninum em cães em Cruz das Almas – BA.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar a presença de anticorpo IgG em amostras de cães domiciliados em Cruz das Almas-Ba, utilizando-se a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI);
- Determinar os fatores de risco da infecção dos cães desse Município;

3.0 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Agente etiológico

Sua primeira descrição foi feita por BJERKAS et al. (1984) quando identificaram cistos teciduais semelhantes ao de *Toxoplasma gondii* em filhotes de cão da raça Boxer, que tinham histórico de alterações neurológicas e exame sorológico negativo para *T. gondii*.

DUBEY et al., (1988a) descreve *Neospora caninum como parasito que pertence ao* filo Apicomplexa, classe Sporozoea da família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, composta por parasitos pertencentes aos gêneros Toxoplasma, Besnoitia, Isosposra, Sarcocystis, Frenkelia e Hammondia.

No mesmo ano em que foi classificado, N. caninum foi isolado e cultivado in vitro a partir de tecidos de cães naturalmente infectados que apresentavam polirradiculoneurite е polimiosite granulomatosa (DUBEY et al., 1988b). Simultaneamente ao isolamento. tecidos neuronais foram inoculados camundongos. Estes animais apresentaram cistos teciduais no sistema nervoso central, semelhantes aos encontrados nos estudos histológicos (DUBEY et al., 1988b).

Desde a descoberta de *N. caninum*, diversos testes sorológicos veem sendo desenvolvidos para a detecção do parasito, e dessa forma diagnosticar a neosporose (Dubey, 1988b). O primeiro teste sorológico empregado para detecção de *N. caninum* foi a reação de Imunofluorescência Indireta (IFI). A partir desse, outros testes foram propostos: ELISA (Enzime-Linked Immunosorbent Assay), testes de aglutinação e immunoblot. Estudos póst-morte, podem ser elucidados por histopatologia e imuno-histoquímica através da demonstração do parasito nos tecidos de animais infectados. (DUBEY et al., 1988b; LINDSAY & DUBEY, 1989).

No final dos anos 90 foi comprovada a eliminação do oocisto nas fezes de cães, o que determina o cão (*Canis familiaris*) como sendo o hospedeiro definitivo do protozoário (McALLISTER et al. 1998). Em estudos realizados por GONDIM, et al. (2004b), também comprovaram a eliminação de oocistos de *N. caninum* nas fezes de cães, quando esses foram alimentados com cérebros de cervo da cauda branca naturalmente infectados, sendo, posteriormente, capazes de liberar oocistos de N. caninum viáveis nas fezes.

3.2 Biologia de Neospora caninum

O ciclo biológico de *N. caninum* foi descrito por McALLISTER et al. (1998) e apresenta três estágios infecciosos: os bradizoítos, os taquizoítos e os esporozoítos. Os taquizoítos e os bradizoítos são estágios intracelulares encontrados no hospedeiro intermediário (Figura 1); Os esporozoítos são formados pelo processo de esporulação dos oocistos eliminados nas fezes dos cães no ambiente. Os oocistos esporulados são infectantes para carnívoros e herbívoros, o que demonstra a sua importância na epidemiologia da neosporose (BARR, et al. 1991).

A ingestão desses oocistos esporulados pelos hospedeiros intermediários desencadeia a formação de cistos teciduais (OLIVEIRA, 2004; LINDSAY et al., 1999). A ingestão oral desse cisto promove a diferenciação sexual do parasito no tecido entero-epitelial do hospedeiro definitivo (SOUZA, 2001). Isso promove a formação de oocistos que são excretados nas fezes, promovendo a disseminação do parasito nos diferentes ecossistemas e favorecendo a infecção de animais domésticos e silvestres (GONDIM, et al., 2004b; FARIAS, 2008; YAI et al., 2005).

Os bradizoítos representam o estágio de proliferação lenta, encontrados nos cistos teciduais, principalmente no sistema nervoso central (DUBEY, 2003). Em determinadas circunstâncias, como na gestação ou animais que apresentem imunossupressão, os bradizoítos podem converter-se em taquizoítos. Esses por sua vez, representam o estágio proliferativo e causador de doença, podendo causar infecção fetal ou lesões nos animais. Esse estágio caracteriza-se por se dividir rapidamente, e penetrar em diversas células do hospedeiro (macrófagos, polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos, células tubulares renais e hepatócitos) causando severas lesões em diferentes órgãos (OLIVEIRA, 2004).

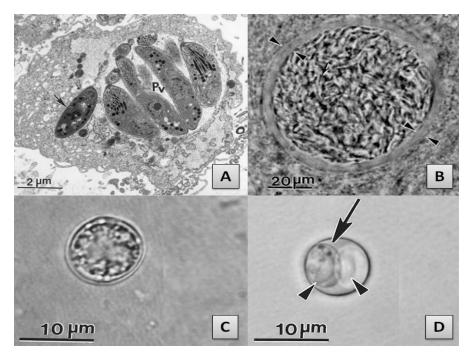


FIGURA 1. Formas biológicas de *N. caninum.* **(A)** Taquizoítos no interior de vacúolo parasitóforo (PV) em cultura de fibroblastos. Taquizoíto no citoplasma da célula hospedeira sem vacúolo visível (seta). **(B)** Cisto tecidual em cérebro de gerbil. **(C)** Oocisto não esporulado, com massa central. **(D)** Oocisto esporulado com dois esporocistos (seta), e contendo esporozoítos (cabeças de seta). Adaptado de DUBEY et al., (2002) e McALLISTER et al., (1998).

Dentro das células, o parasito se localiza em uma estrutura denominada vacúolo parasitóforo (VP). Esse vacúolo é formado pela própria membrana da célula hospedeira e separa os taquizoítos do citoplasma celular. Os taquizoítos participam da invasão, formação e manutenção do VP, o que permite a proliferação do parasito (HEMPHILL et al., 2000).

Em casos mais severos de neosporose, hospedeiros definitivos podem desenvolver infecção extra-epitelial. Essa doença é mais comum em filhotes congenitamente infectados e em cães jovens. Nesses casos, as principais manifestações traduzem-se por paresia dos membros posteriores evoluindo para uma paralisia progressiva (DUBEY e LINDSAY, 1996).

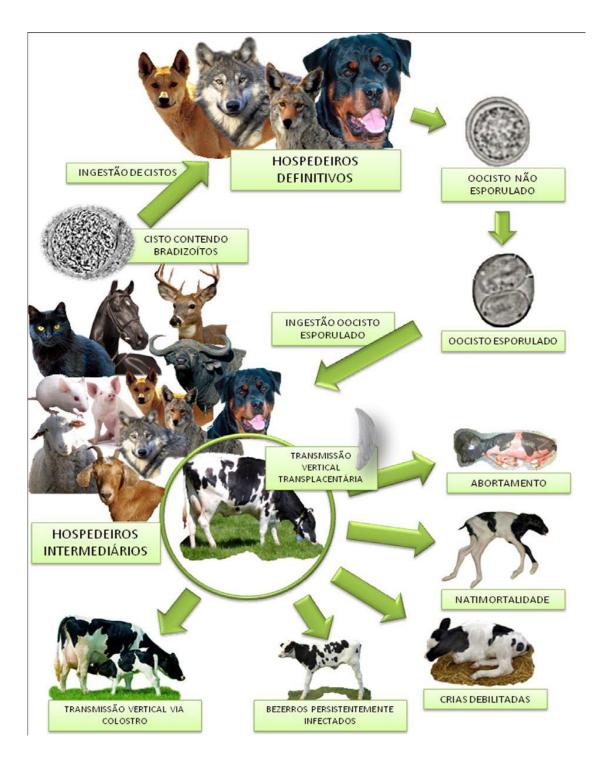


Figura 2: Ciclo evolutivo de Neospora caninum. Fonte: Adaptado de GUIMARAES, (2011).

3.3 Patogenia e resposta imune

Como outros parasitas Apicomplexa, *N. caninum* é um parasita intracelular obrigatório, assim para a sua sobrevivência, proliferação e para completar seu ciclo de vida, o parasita deve entrar em uma célula hospedeira viável. Esse protozoário difere dos demais gêneros do filo Apicomplexa, pois são capazes de invadir e se proliferar em diferentes tipos de células de mamíferos (macrófagos, polimorfonucleares, hepatócitos, miócitos, neurônios, etc) (RODRIGUEZ et al., 1999; DUBEY & LINDSAY, 1993).

HEMPHILL et al (1996) relatam que o parasitismo por *N. caninum*, acontece logo após adesão e invasão das células alvo pelas vias sanguínea e linfática. O reconhecimento para esse processo ocorre através de proteínas específicas presente na região apical do taquizoíto. Em seguida, reações bioquímicas de interação entre célula-parasita, provocam desordens metabólicas e dessa forma ocorre o englobamento para o meio intracelular.

Após a penetração celular, o parasito é envolvido por um vacúolo que se desloca para o interior da célula hospedeira, isolando-o do citoplasma. (HEMPHILL et al, 1996). Quando há o completo desenvolvimento intracelular, o vacúolo parasitóforo se rompe e os taquizoítos vão infectar outras células, até o comprometimento tecidual. Outra possibilidade é a transformação destes em bradizoítos, que são capazes de formar cistos teciduais e persistir por vários anos sem provocar sinais clínicos (FUCHS et al, 1998).

Os fatores que influenciam na patogênese e resposta imune à infecção por *N. caninum* nas diferentes espécies é pouco estudada, porém, a relação hospedeiro-parasito depende da resposta imune do hospedeiro, bem como da quantidade e duração da parasitemia. Este processo determina o resultado da infecção, contribuindo na eliminação ou sobrevivência do parasito (HEMPHILL et al., 2000).

A resposta imunológica contra a parasitemia por *N. caninum* instalada consiste na produção de anticorpos específicos (resposta humoral), além de uma resposta imune mediada por células, padrão Th1. O sucesso dessa resposta é dependente da produção de citocinas pro-inflamatórias, principalmente com a liberação do interferon gama (IFNy) (ANDRIANARIVO et al., 2001). Uma vez que *N. caninum* é um parasita intracelular obrigatório, espera-se que a resposta imune mediada por células tenha maior importância como resposta protetora.

Sabe-se que a ocorrência de destruição celular e consequentemente da doença depende de um balanço existente entre a capacidade do taquizoíta em penetrar e se multiplicar na célula hospedeira e a habilidade do hospedeiro em inibir a multiplicação do parasito (BUXTON et al., 2002). Dessa forma, na ausência de uma resposta imune, os taquizoítos continuam sua multiplicação, causando destruição celular até a morte do hospedeiro. A resposta imune e a presença de outros fatores fisiológicos induzem a diferenciação dos taquizoítos em bradizoítos, estabelecendo-se uma infecção cística tecidual (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

3.4 Sinais Clínicos

Em bovinos adultos, a neosporose causa abortamentos. Entretanto, os bezerros, que nascem, podem desenvolver um quadro clínico sintomático, caracterizado por comprometimento neuromuscular (DUBEY & LINDSAY, 1996).

As infecções por *N. caninum* normalmente tem ocorrência em cães jovens infectados congenitamente (DUBEY et al., 1990), mas cães de qualquer idade podem se infectar com o parasito (TREES et al., 1993). Os animais com neosporose congênita desenvolvem os sinais clínicos a partir da terceira semana de vida. Essas podem caracterizar-se por alterações neurológicas que podem variar de leve até grave (CUDDON, 2002). As manifestações clínicas variam de acordo com os tecidos parasitados (DUBEY, 2003). Normalmente começam por uma paralisia ascendente de membros pélvicos (BASSO et al., 2005). Em adultos incoordenação e paresia dos membros posteriores é normalmente observada (GONDIM et al., 2001).

Os sinais neurológicos geralmente caracterizam-se por hiperextensão rígida dos membros posteriores, dificuldade em deglutir, paralisia mandibular, flacidez e atrofias musculares além de paralisia de nervos faciais (BARBER & TREES, 1996; DUBEY, 2003). BASSO et al., (2005) sugerem que a neosporose clínica deve ser incluída no diagnóstico diferencial nos casos de megaesôfago em cães, já que foram observadas alterações esofágica (regurgitação) em filhotes infectados.

Outros sinais de neosporose clínica em cães incluem a fraqueza progressiva dos membros, evoluindo para tetraplegia, inclinação cervical, disfagia, ataxia, tremor de cabeça, andar hipermétrico, hiperreflexia, incontinência, anorexia, polidipsia,

pirexia, convulsões, alterações de comportamento e colapso súbito secundário a miocardite (BARBER, 1998; TREES, 1996;).

Foram relatados casos de dermatite, gastroenterites e pneumonia (DUBEY, 2003; BASSO et al., 2005). Neosporose cutânea tem sido descrita em cães imunossuprimidos por co-infecção, como a leishmaniose (TARANTINO et al., 2001). Também foi descrita lesões cutâneas em um cão da raça Greyhound italiano quando se fez uso prolongado de corticosteroide no tratamento de Lupus auto-imune (La PERLE et al., 2001).

3.5 Diagnóstico

O diagnóstico clínico é difícil, pois a sintomatologia nervosa pode ser confundida com traumatismos, patologias do disco intervertebral, cinomose, raiva, entre outros. Dessa forma, busca-se identificar o parasito através de testes diretos e indiretos (FARIAS, 2008).

O diagnóstico definitivo da neosporose é feito através da identificação do parasito nos tecidos. Esse é observado pelos métodos diretos: histopatologia, imunohistoquímica, PCR e o isolamento *in vitro* ou *in vivo*. Entretanto, este tipo de diagnóstico, tem custos elevados além da desvantagem de ser invasivo, havendo necessidade de fragmentos de tecidos para análise (DUBEY & LINDSAY, 1996; DUBEY, 2003;).

Em animais em que há suspeita clínica de neosporose preconiza-se o diagnóstico indireto. Nesse diagnóstico utiliza-se a detecção de anticorpos específicos anti-*N. caninum* (DUBEY, 2003). Os métodos sorológicos indicam exposição previa do animal ao protozoário, visto que aqueles soropositivos podem ser assintomáticos (BARBER E TREES, 1996). As técnicas sorológicas são as mais difundidas na detecção da neosporose em diferentes espécies animais.

Vários métodos sorológicos como imunofluorescência indireta (IFI), ensaios imunoenzimáticos (ELISA), Imunoblotting (IB) e aglutinação direta, são utilizados para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum.* O princípio desses testes consiste no reconhecimento antigênico de taquizoítos que são ligados a anticorpos específicos (JENKINS et al., 2002).

A imunofluorescência indireta (IFI), foi primeiramente introduzida por DUBEY et al. (1988b) e desde então é amplamente utilizada como teste de referencia para o diagnóstico de neosporose. Consiste em evidenciar a reação antígeno-anticorpo através de uma ligação secundária com anticorpos conjugados a enzimas (TEXEIRA, 2010). Diversos fluidos biológicos podem ser utilizados neste teste, como: líquor, amostras de soro e plasma, colostro e leite (LINDSAY et al., 1999).

Estudos epidemiológicos em diversos hospedeiros têm demonstrado que o teste de imunofluorescência indireta (IFI) apresenta uma alta sensibilidade para *N. caninum* e uma baixa ocorrência de reação cruzada entre *N. caninum* e Toxoplasma gondii, indicando elevados índices de sensibilidade e especificidade na reprodução do teste (Souza et al., 2001).

DUBEY (2003) relata que no teste da IFI, considera-se positivo os cães com título maior ou igual a 1:50. Isso significa exposição desses animais ao agente. Um título maior ou igual a 1:800, em cão com sinais clínicos é forte indício de neosporose. Entretanto, vale ressaltar que animais com infecção latente podem não demonstrar sinais clínicos o que dificultará o diagnóstico (GIRALDI et al., 2001; BJORKMAN & UGGLA, 1999). A principal desvantagem desta técnica pode ser considerada a sua subjetividade no momento da leitura, o que pode resultar na baixa reprodutividade do teste (HEMPHIL, 1999).

O método de reação imunoenzimática (ELISA) consiste em uma preparação de antígeno adsorvida a uma superfície sólida. Após a incubação com o soro diluído a ser analisado, um conjugado (anti-anticorpo marcado com enzima) é aplicada. Ao final, um substrato é adicionado e na presença da enzima é catalizado a um produto colorido. Desta forma a presença de coloração indica que o animal apresenta anticorpos anti- *N. caninum* (BJORKMAN & UGGLA, 1999).

O Imunoblotting é um método onde proteínas são imobilizadas em uma membrana e transferidas por capilaridade, difusão ou forças elétricas. O complexo antígeno-anticorpo é visualizado através da aplicação de um conjugado enzimático ao qual se adiciona um substrato que reage com a enzima, dando cor a reação. Em decorrência de ser uma técnica demorada e laboriosa também tem sido utilizado como ferramenta para o estudo da resposta imune humoral. Além do mais, tem contribuído para a identificação de diferentes estágios de infecção de *N. caninum* (HEMPHIL et al., 1999; MINEO et al., 2001).

O teste de aglutinação direta (MAT) baseia-se em reações formadas por agregados visíveis da interação antígeno – anticorpo (Ag-Ac). Na interpretação do teste, os resultados negativos correspondem à formação de um ponto no fundo do poço da placa, e em caso de resultado positivo ocorre uma sedimentação difusa. Esta técnica tem a vantagem de não necessistar de conjugados específicos (DESMONTS & REMINGTON, 1980).

Estudos entre testes sorológicos na detecção de anticorpos anti-*N.caninum*, afirmam que quando comparou-se as técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e a de microaglutinação (MAT), a sensibilidade e a especificidade observada é de 100% e 98% para a RIFI e 97% e 99% para a microaglutinação MOTA et al, (2008).

3.6 Aspectos epidemiológicos

A distribuição da neosporose se faz presente em todo o mundo (CORBELLINI, 2000). Tal fato relaciona-se à elevada exposição de bovinos ao parasito. (DUBEY, 2003). Os cães têm um importante papel na manutenção da doença. Isso acontece pela infecção de outros hospedeiros. Os hábitos de carnivorismo garantem que o tecido com cistos sejam ingeridos e perpetuem o ciclo do protozoário (DUBEY, 2003).

N. caninum tem a característica de infectar uma variada gama de hospedeiros. Os hospedeiros definitivos são necessariamente carnívoros, sendo conhecidas quatro espécies de canídeos atualmente: o cão (Canis Lupus familiaris) (McALLISTER et al., 1998;), o coiote (Canis latrans) (GONDIM, et al., 2004), o dingo (cão silvestre australiano – Canis lúpus dingo) (KING et al., 2010) e o lobo cinzento (Canis lúpus) (DUBEY et al., 2011). Quanto aos hospedeiros intermediários, além dos cães e de bovinos, existem relatos de infecção natural em caprinos e ovinos (ALMERÍA et al., 2007) equinos, bubalinos, camelídeos (WOLF et al., 2005), dentre outros animais silvestres e aves (urubus, galinhas e corvos) (DARWICH et al., 2011).

Em ruminantes, os mecanismos de infecção por *N. caninum* são caracterizados pela transmissão vertical (aquele que ocorre da mãe para o feto) e horizontal. Na transmissão horizontal os bovinos podem se infectar pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos (GONDIM et al., 2004). Em cães jovens, a neosporose ocorre com maior frequência por infecção vertical

(BJERKAS et al., 1984; DUBEY & LINDSAY 1989b). Entretanto, alguns autores defendem que a transmissão horizontal em cães adultos comumente ocorre devido ao maior tempo de exposição deste hospedeiro (BASSO, et al., 2001; WANHA et al., 2005).

A ocorrência de neosporose nos rebanhos bovinos vem sendo estudado em todo o mundo, e no Brasil. Segundo PARÉ et al., (1998) há associação positiva entre presença de cães nas propriedades e a ocorrência de abortos em vacas. As perdas econômicas com o aborto bovino foram estimadas na Califórnia (EUA), chegando a U\$ 35 milhões/ano no rebanho leiteiro (WALKER, 2004). SARTOR et al., (2005) demonstraram uma ocorrência de 35% e 20% no rebanho leiteiro e em gado de corte respectivamente, no estado de São Paulo.

O cão e os canídeos selvagens representam fonte de infecção no processo de disseminação da forma sexuada do *N. caninum*, assumindo então, um importante papel na cadeia natural do agente (SOUZA, 2001). Na população canina, a soroprevalência varia de região para região, sendo maior entre os cães rurais quando comparados aos urbanos (SAWADA et al., 1998).

Estudos soroepidemiológicos apontam ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em várias partes do mundo, indicando que a neosporose tem ampla distribuição mundial: Argentina (BASSO et al., 2005); Lima (HORNA et al., 2003) (Áustria (WANHA et al., 2005) , Nova Zelândia (ANTONY E WILLIAMSON, 2003), Japão (SAWADA et al., 1998), Inglaterra (DUBEY et al., 1990; Trees et al., 1993); Uruguai (BARBER et al., 1997) e as Américas (ANDERSON et al., 2000; BJERKAS et al., 1988; McALLISTER et al., 1996; PARÉ et al., 1998).

Estudos de soroprevalência do parasita *Neospora caninum*, em soro de cães dos distritos da província de Chachapoyas no Peru analisados pela técnica de imunofluorescencia indireta, foi observada uma ocorrência de 28,9% (41/142) de amostras positivas com títulos maior ou iguais a 1:50 (HORNA et al., 2003).

TREES et al., (1993) na Inglaterra, analisando amostras séricas de cães de população urbana, por meio da IFI, verificaram uma soroprevalência de 16,6% (27/163) para *N. caninum*, e observaram não haver predisposição em relação a raça.

CRINGOLI et al., (2002), no Sul da Itália, encontraram 6,4% dos cães soropositivos para presença de anticorpos anti-*N.caninum*, por meio da imunofluorescencia indireta, sendo que os títulos variaram de 1:50 a 1:3.200.

Amostras de soros de cães de propriedades rurais da Costa Rica foram examinados por meio do teste ELISA, sendo verificado uma frequência de 48,4% (15/31) dos animais sororreagentes para *N. caninum* (PALAVICINI et al., 2007).

No Brasil, há registros de soroprevalência de anticorpos para *Neospora caninum* em cães em todas as regiões da federação: Centro Oeste (BENETTI et al., 2008; BOAVENTURA et al., 2008), Nordeste (JESUS et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2009; FIGUEREDO et al., 2008; TEXEIRA et al., 2006), Norte (CAÑON-FRANCO et al., 2003; AZEVEDO et al., 2005), Sudeste (GENNARI et al., 2002; FERNANDES et al., 2004; MINEO et al., 2004; MORAES et al., 2008) e Sul (CUNHA FILHO et al., 2008). A frequência desses estudos variaram de 8,3% a 68,23%, e os animais eram provenientes de diferentes ambientes (domiciliados, errantes, centro de controle em zoonoses e ambiente rural).

Na Bahia, foram realizados dois estudos de soroprevalência em cães, nas cidades de Ilhéus, Salvador e Lauro de Freiras. Segundo MAGALHÃES et al., (2009) após analisarem 161 amostras de sangue de cães na cidade de Ilhéus pela técnica de IFI, constataram que 11,8% (19/161) animais apresentaram anticorpos contra *N. caninum*. Em estudos semelhantes realizados por JESUS et al., (2006) foram detectados anticorpos da classe IgG anti-*N. caninum* na frequência de 13,3% (22/165) dos cães domiciliados e em 11,2% (28/250) dos errantes.

3.7 Medidas de controle da neosporose

ANDREOTTI, (2001) preconiza que as medidas de controle em neosporose consistem em impedir a transmissão entre cães e hospedeiros intermediários. Dessa forma, evita-se que o parasito infecte cronicamente o rebanho (DUBEY, 1990). A fim de evitar a doença nos animais preconiza-se evitar o acesso dos cães aos alimentos e fontes de água dos bovinos, e fornecer ração comercial aos cães, reduzindo exposição desses aos tecidos infectados como placenta e fetos abortados (Figura 3) (CORBELLINI, 2001).



Figura 3. Cão ingerindo membranas fetais após aborto de vaca leiteira. Fonte: Arquivo Pessoal.

A transmissão vertical tem sido a principal forma de disseminação do *N. caninum* em rebanhos bovinos (VOGEL et al., 2006). Tal observação tem sido comprovada, igualmente em: ovinos, caprinos, felinos e macacos (DAVIDSON et al., 1999). Assim, o parasito pode persistir por vários anos no rebanho sem o envolvimento de um hospedeiro definitivo. Segundo DAVISON et al., (1999) as vacas infectadas são 3 a 7 vezes mais suscetíveis ao aborto que as vacas não infectadas, e também afirma que cerca de 78% a 95% dos bezerros nascidos de mães infectadas também se encontram infectados.

Medidas de controle que visam diminuir a infectividade no rebanho devem ser preconizadas. A criteriosa introdução de novos animais deve ser finalizada mediante teste sorológico prévio, e apenas animais soronegativos deverão ser adquiridos e inseridos na propriedade.

Outras estratégias de controle da neosporose em bovinos devem ser consideradas, tais como: exclusão de bezerradas nascidos de mães infectadas, troca de matrizes sabidamente sororeagentes, e nos casos de vacas de alto valor genético pode-se fazer transferência de embrião para receptoras negativas, a fim de evitar transmissão vertical (BJÖRKMAN & UGGLA, 1999).

Segundo DUBEY (1999) não existe vacina para prevenir a ocorrência de abortos por *Neospora caninum* nos bovinos ou a eliminação de oocistos pelos cães. A imunoproteção vacinal é de 46% que por sua vez não garante imunidade eficiente a ponto de não impedir transmissão vertical do parasito (ROMERO et al., 2004;).

Vacinas estão sendo testadas em várias partes do mundo, porém com resultados pouco satisfatórios (ANDERSON, 2000).

Estudos sobre desenvolvimento de vacinas estão sendo realizados, e atualmente no Brasil já existe uma vacina comercial disponível no mercado. Essa é uma vacina inativada de *N. caninum* e foi avaliada em um estudo de campo no México que demonstrou eficiência de 46,2% na redução do índice geral de abortamentos. Essa vacina tem a capacidade de estimular não apenas a resposta humoral, mas também uma resposta mediada por células (BIELSA et al., 2004).

WESTON et al., (2012) estudaram a eficácia da vacinação na prevenção da neosporose bovina em vacas de leite de fazendas situadas na Nova Zelândia com histórico prévio de aborto. Nesse trabalho observaram que a vacinação após a concepção impediu 61% de abortos em uma das cinco propriedades. Entretanto, a vacinação pode ter aumentado o risco de morte embrionária precoce nos demais animais do experimento.

Devido à baixa imunogenicidade das vacinas, recomenda-se associação de medidas zoosanitárias para evitar a disseminação da neosporose (ANDREOTTI, 2001).

3.8 Tratamento

Ainda não há tratamento para bovinos que os torne livres da infecção por *Neospora caninum*, dessa forma o tratamento nessa espécie é ineficaz (FARIAS, 2008). Estudos utilizando quimioterápicos antiprotozoários em bezerros infectados têm mostrado algum efeito na diminuição da disseminação do parasito no animal (DUBEY, 2003).

Em cães o quanto mais cedo instituir terapêutica, melhora a condição clínica do paciente e, por conseguinte, o prognóstico. É recomendado o uso isolado ou associado de clindamicina (11-22mg/kg BID ou TID), sulfonamidas potencializadas (15mg/kg – BID ou TID) e pirimetamina (1mg/kg SID). O tratamento deve durar de duas a nove semanas, dependendo da resposta do paciente (NEVES et al., 2010). Como tratamento auxiliar é recomendada a administração de antiinflamatórios não-esteróides (AINES), fisioterapia, acupuntura, auxílio à micção e a suplementação

com vitaminas do complexo B para suprir possíveis deficiências de ácido fólico (Barber, 1998).

Estudos desenvolvidos por DUBEY & LINDSAY (1996) em camundongos infectados e tratados com sulfadiazina, demonstram uma eficiência em 90%. Os autores iniciaram a aplicação dessa droga três dias após a infecção por duas semanas. Também relataram que o tratamento com várias sulfonaminas associadas com inibidores de dihidrofolato redutase e timidilato sintetase foram eficientes contra neosporose.

Em estudo de caso realizado por CROOKSHANKS et al., (2007) em filhotes de cão com miosite e polirradiculoneurite diagnosticados com neosporose e co-infectado por *Toxoplasma gondii*, recomendou-se o tratamento inicial com sulfadiazina associado à trimetoprim na dose de 15-30 mg/kg, VO, BID. Contudo o grau de sucesso desse tratamento é normalmente baixo, embora existam relatos de resolução completa dos sinais de neosporose em cão adulto com administração combinada de 1 mg/kg, VO, SID de pirimetamina e 20 mg/kg, VO, BID de sulfadoxina durante 30 dias (PAIXÃO, 2004; NEVES, 2010).

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de Estudo

Foram avaliados cães da área urbana do município de Cruz das Almas, Bahia.

O Município de Cruz das Almas está localizado na Região do Recôncavo da Bahia. Possui uma população de 63,299 habitantes (Censo IBGE/2013) e uma área total de 150,903 km², conforme Figura 4 abaixo:



Figura 4. Localização geográfica do município de Cruz das Almas - BA em Vermelho.

Fonte:http://www.brasilfazendas.com.br/mapas/mapas_arquivos/mapa_reconcsul.gif

4.2 Amostras

Foram colhidas amostras de sangue de 100 cães, de ambos os sexos, domiciliados e residentes na cidade de Cruz das Almas-BA, provenientes de diferentes bairros da cidade (Tabela 1).

Tabela 1. Freqüência de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, pela técnica de imunofluorescência indireta, em cães domiciliados e positivos, provenientes de diferentes bairros, no município de Cruz das Almas, Estado da Bahia.

Bairros	Frequência		
	N	(%)	
Ana Lúcia	13	28,26%	
Centro	02	4,34%	
Inocoop	20	43,47%	
Suzana	03	6,52%	
Tabela	06	13,04%	
Miradouro	02	4,34%	
TOTAL	46	100%	

As amostras de sangue foram colhidas através de punção das veias cefálica ou jugular (Figura 5), acondicionadas em tubos sem anticoagulante, identificados individualmente e levadas sob refrigeração ao Laboratório de Bioquímica e Imunologia Veterinária, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. As amostras foram centrifugadas, e o soro acondicionado em tubos tipo eppendorf a 20°C negativos para posterior análise sorológica.



Figura 5. Coleta de sangue por punção da veia jugular de um cão. Fonte: Arquivo pessoal.

4.3 Cultivo de Neospora caninum

Taquizoítos de *N. caninum* da cepa NC-Bahia (GONDIM *et al.*, 2001) foram mantidos em células Vero, com trocas regulares de meio RPMI enriquecido com 10% de soro fetal bovino, a cada 48 horas. Os parasitas foram purificados, quando a monocamada apresentou um efeito citopático de 90%, utilizando-se filtros seringa de 5,0 μm, quando foram utilizados para sensibilização das lâminas.

4.4 Preparo de lâminas de IFI

O parasito purificado foi diluído para uma concentração final de 700 a 1000 taq/µl em PBS. Em seguida foram depositados 10 µl, desta solução, em cada poço demarcados na lâmina de imunofluorescência (Figura 6). As lâminas contendo a solução descrita foram incubados a 37°C em estufa até secagem total. As lâminas foram enroladas em papel alumínio e conservadas a -20°C até o uso das mesmas para o teste.

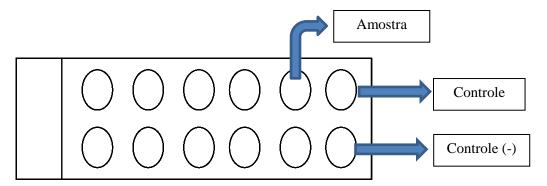


Figura 6. Desenho esquemático da lâmina de Imunofluorescência Indireta com 12 poços. Fonte: Arquivo pessoal.

4.5 Reação de imunofluorescência indireta (IFI)

A detecção de anticorpos foi feita utilizando-se a técnica descrita segundo DUBEY et al., (1988) . A diluição utilizada dos soros foi a de 1:50. Em seguida os soros diluídos foram adicionados à lâmina previamente fixada com taquizoítos como descrito acima.

Foi adicionado 10 µl do soro diluído em cada poço da lâmina. Foram utilizados soros controles (positivo e negativo) em cada lâmina em igual quantidade.

As lâminas foram incubadas por 40 minutos em câmara úmida a 37 °C. Posteriormente, foram lavadas 2 vezes por 5 minutos em PBS (pH 7,2). Depois de secas, foi adicionado 10 μl do conjugado anti-IgG a canino (sheep anti dog igG®) na diluição de 1:400 em PBS-azul de Evans (0,005%) e as lâminas foram, então incubadas em estufa a 37°C, em câmara úmida, durante 40 minutos. Novamente as lâminas foram lavadas duas vezes com PBS, durante 5 minutos cada vez. Logo após a secagem das lâminas, em temperatura ambiente, procedeu-se a sua montagem com glicerina-PBS (80%) tamponada e lamínula. As lâminas foram examinadas em microscópio equipado com luz fluorescente, objetiva de 40x (Olympus CKX 41).

Em todas as lâminas examinadas foram adicionados controles positivos e negativos, constituídos por amostras de soro de cães previamente examinados por IFI, provenientes do banco de soro do Laboratório de Bioquímica e Imunologia Veterinária da UFRB. A reação foi considerada positiva quando se observou fluorescência periférica total em mais de 50% dos taquizoítos presentes na lâmina (DUBEY et al., 1988b).

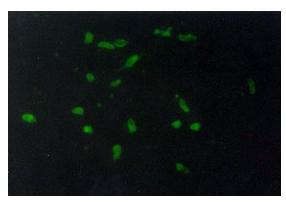


Figura 7. Reação de Imunofluorescência indireta com positividade para anticorpos contra *N. caninum* em soro canino diluído a 1:50. Aumento de 1000x. OLIVEIRA, (2004).

4.6 Questionário Epidemiológico

Foram aplicados questionários epidemiológicos (Apêndice A) para todos os animais utilizados no estudo. A aplicação do inquérito epidemiológico foi realizada diretamente com os proprietários ou responsáveis. Os questionários foram catalogados conforme a numeração do soro correspondente para posterior análise.

5.0 RESULTADOS

5.1 - Reações de imunofluorescência indireta (IFI)

Do total de 100 soros caninos examinados 46% (46/100) foram positivos, com títulos de 1:50 (Figura 8). Os resultados da sorologia foram relacionados com a idade, sexo, raça, dieta e acesso à rua.

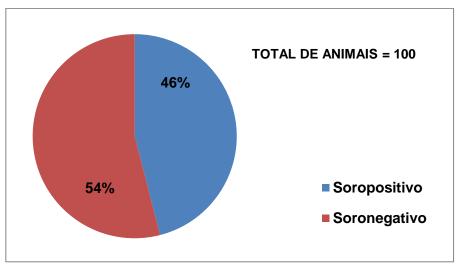


Figura 8. Resultado da reação de imunofluorescência indireta para *Neospora caninum.*

5.2 Avaliação dos questionários epidemiológicos

A partir das informações colhidas pelo questionário epidemiológico, constatou-se que os cães do estudo apresentaram idade média de aproximadamente 4 anos (de 2 meses a 15 anos). Outra característica observada nestes animais foi que 43,48% eram cães sem raça definida (Tabela 2).

Tabela 2. Freqüência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum*, pela técnica de imunofluorescência indireta, em cães domiciliados e positivos de diferentes raças e sem raça definida, no município de Cruz das Almas, Estado da Bahia.

Raças	Frequ	uência
	N	(%)
Animais com raça definida	26	56,52
Animais sem raça definida	20	43,48
TOTAL	46	100%

Quando se correlaciona o tipo da dieta dos animais positivos verifica-se que 28,26% dos animais consomem apenas ração, 36,95% dos animais consomem comida caseira e 34,78% dos animais recebem dieta mista (Figura 9).

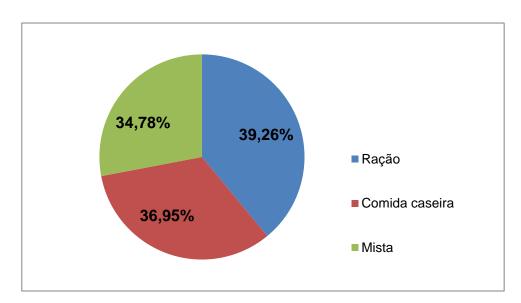


Figura 9. Frequência de cães soropositivos pela técnica de RIFI quanto à variável alimentação, no período de Dezembro de 2013 a Fevereiro de 2014, na cidade de Cruz das Almas – BA.

O estudo epidemiológico aponta que 80,4% dos cães positivos tinham acesso à rua, com ou sem guia. Os resultados da variável gênero analisados no estudo epidemiológico, indicam que a proporção de fêmeas sororeagentes é dominante em 60,87% (29/46) dos animais em relação à de machos 39,13% (18/46).

6.0 DISCUSSÃO

Alguns estudos foram feitos para determinar a presença de anticorpos anti-Neospora caninum em cães no Brasil. Nesse estudo foi observado uma positividade de 46% (46/100) das amostras analisadas. Esses valores são semelhantes aos encontrados por TEXEIRA et al., (2006) e BENETTI et al., (2008) que encontraram uma taxa de 45% de positividade entre os cães capturados pelo Centro de controle de Zoonoses de São Luís (MA) e naqueles domiciliados na cidade de Cuiabá (MT) respectivamente.

Entretanto os valores encontrados no presente estudo, superam os encontrados por BOAVENTURA et al., (2008) e FERNANDES et al., (2004) em estudos de prevalência em cães procedentes de áreas urbanas das cidades de Goiânia (GO) com 32,9% (65/197) e Uberlândia (MG) com 32% (96/300) respectivamente.

Estudos de prevalência realizados no Estado da Bahia em cães provenientes de área urbana das cidades de Ilhéus e Salvador – Lauro de Freitas, foram identificados pela técnica de Imunofluorescência indireta e a soropositividade identificada em 11,8% (19/161) por MAGALHÃES et al., (2009) e 12,1% (50/415)por JESUS, et al. (2007) respectivamente.

Em Aracaju (SE), estudando a prevalência de infecção por *N. caninum* em cães errantes e domiciliados em abrigos de uma associação de proteção animal, MELO et al.(2003) observaram uma prevalência de 68,37% de cães soropositivos para *N. caninum*.

Ainda que os resultados comparados com a literatura pareçam semelhantes, eles sempre devem ser confrontados com cautela, dadas as diferenças observadas no tipo de teste sorológico empregado, no ponto de corte, na origem e no número de animais amostrados. A soropositividade verificada nos animais que tinham acesso a rua foi quatro vezes maior em relação àqueles que não saiam da residência. Demonstra-se assim, que na população canina, a influência da condição de sua vida são fatores de risco à infecção, visto que é maior a chance de exposição dos animais que tem livre acesso a rua com outros hospedeiros, e à carne e vísceras contaminadas e oocistos esporulados ou cistos teciduais do que aqueles cães com acesso restrito a rua (OLIVEIRA, 2004).

Analisando a variável alimentação, neste estudo foram observadas diferentes frequências de anticorpos de *N. caninum* em cães que eram alimentados com ração comercial (39,26%) em relação aos que se alimentaram com comida caseira (36,95%) ou dieta mista (ração + comida caseira) (34,78%), indicando pouca variação dos títulos nessa variável com a presença de anticorpos. Entretanto, quando se considera a positividade com utilização de alimento caseiro verifica-se uma positividade de 71,7%. Os autores CAÑON-FRANCO et al (2003) e BENETTI et al., (2008) não obtiveram associação positiva da ocorrência de anticorpos e o tipo de alimentação oferecida aos animais, utilizando a mesma técnica de diagnóstico empregada no presente trabalha (TEXEIRA, 2010).

Os resultados encontrados no presente estudo, em relação à idade dos animais demonstram que a infecção por *N. caninum* ocorreu com maior frequencia em animais maiores que 1 ano. WANHA et al. (2005) também observaram que o crescimento dos níveis de anticorpos aumentam com a idade dos cães, fato este que evidencia a importância da transmissão pós natal em cães.

Em relação aos gêneros analisados no estudo epidemiológico, indicam que a proporção de fêmeas sororeagentes é dominante 60,87% (29/46) dos animais estudados em relação à de machos 39,13% (18/46), entretanto, acredita-se que cães de ambos os sexos são expostos aos mesmos fatores de riscos. Em trabalhos na Argentina (BASSO et al., 2001) e Uberlândia (FERNANDES et al., 2004) observaram que as variáveis gênero e raça dos cães não tinham associação com a ocorrência de *N. caninum*. A divergência da variável gênero com os resultados desse estudo pode ser em decorrência do tamanho amostral empregado, necessitando, portanto, de uma avaliação mais abrangente.

Em estudo realizado em Goiânia por FERNANDES et al., (2004), com cães de área urbana também não se observou diferença entre gênero dos animais. Foram analisadas 197 amostras de cães pela técnica de IFI, com ponto de corte 1:50.

7.0 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo de levantamento sorológico de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de Cruz das Almas (BA) indicam alta positividade de cães domiciliados. Desta forma, os médicos veterinários da região devem ser alertados sobre a presença deste agente em cães com sintomatologia nervosa. Diante disso, conclui-se que o parasito está presente na região e que a utilização de comida caseira foi um importante fator de risco para os animais.

8.0 BIBLIOGRAFIA

ALMERÍA, S.; VIDAL, D.; FERRER, D.; PABÓN, M.; FERNÁNDEZ-DE-MERA, M. I. G.; RUIZ-FONS, F.; ALZAGA, V.; MARCO, I.; CALVETE, C.; LAVIN, S.; GORTAZAR, C.; LÓPEZ-GATIUS, F.; DUBEY, J. P. Seroprevalence of Neospora caninum in non-canivorous wildlife from Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã v. 143, n. 1, p. 21-28, jan. 2007

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 California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.198, p.241-244, 1991.

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

ANDREOTTI, R. Neosporose: um possível problema reprodutivo para o rebanho bovino – Campo Grande: **Embrapa gado de Corte**. 14p. (Documentos Embrapa dado de Corte, ISSN 1517-3747; 104), 2001.

ANDRIANARIVO, A.G.; BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; ROWE, J.P.; HOFFMAN, R.L.; CONRAD, P.A. Neospora-like protozoan infections as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 2, p. 241-4, 1991.

ANTONY, A.; WILLIAMSON, N.B. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. **New Zealand Veternary Journal**, v. 51, n.5, p. 232-237, 2003.

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., 2005. Seroepidemiology of Toxoplasma gondii and neospora caninum in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Res. Vet. Sci**. 779, 51-56

BARBER, J.S., TREES,A.J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. **The Veterinary Record**, v.139,p.439-43, 1996.

BARBER, J.S.; GASSER, R.B.; ELLIS, J.; REICHEL, M.P.; McMILLAN, D.; TREES, A.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. **Journal Parasitology**, *v.* 83, p. 1056-1058, 1997.

BARBER, J.S.; neosporosis canina. Walthan Focus. V8, p.25-29,1998

BARR, K. C. et al. Neospora-like protozol infections with bovine abortion. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v.28, n.2, p. 110-116, Mar. 1991.

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

BASSO, W.; VENTURINI, M. C.; BACIGALUPE, D.; KIENAST, M.; UNZAGA, J. M.; LARSEN, A.; MACHUCA, M.; VENTURINI, L. Confirmed clinical *Neospora caninum* infection in a boxer puppy from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 131, n. 3-4, p. 299-303, 2005.

BIELSA, J.M., ROMERO, J.J., HEUER, C. Controle de Neosporose em bovinos com Bovilis Neoguard: a experiência de campo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.

BENETTI, A.H.; TONIOLLO, G.H.; SANTOS DOS, T.R.; GENNARI, S.M.; COSTA DA, A.J.; DIAS, R.A. Ocorrência de anticorpos anti-*neospora caninum* em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p. 177-180, jan./mar. 2008.

BJERKAS, I., MONH, S.F., PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Z. Parasitenkd** 70, 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.

BOAVENTURA, C.M.; OLIVEIRA DE, V.S.F.; MELO, D.P.G.; BORGES, L.M.F.; SILVA DA, A.C. Prevalência de *Neospora caninum* em cães de Goiânia. **Revista de Patologia tropical.** Vol. 37 (1): 15-22. jan.-abr. 2008.

BUXTON, C.; MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends Parasitology**, Oxford, v. 18, n.12, p. 546-552. 2002.

CANÕN-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 fron Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**. V. 115, p. 71-74, 2003.

CHRISMAN, C.; MARIANI, C.; PLATT, S; CLEMMONS, R. Neurologia para Clínico de Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2005. p. 3-336

CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.; DIAS, M.M. Aborto bovino por Neospora caninum no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural.** Santa Maria. v.30 n.5 p.863-868, 2000.

CORBELLINI L.G. 2001. Infecção por *Neospora caninum* em bovinos leiteiros no Estado do Rio Grande do Sul: diagnóstico, avaliação sorológica e aspectos epidemiológicos. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CRINGOLI, N.P.; CHÁVEZ, A.V.; CASAS, E.A.; ARANA, C.D. Seroprevalencia de *Neospora caninum* em perros de establos lecheros de la cuenca izquieda del Valle del Mantaro. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 15, n. 1, p.70-75, 1004.

CROOKSHANKS JL, TAYLOR SM, HAINES DM, SHELTON GD. Treatment of canine pediatric Neospora caninum myositis following immunohistochemical identification of tachyzoites in muscle biopsies. **Can Vet J** 2007; 48(5): 506-508

- CUDDON, P.Q. Acquired canine peripheral neuropathies. **Veterinary Clinics of Noth America: Small Animal Pratice**. V. 32, n.1, p. 225-229, 2002.
- CUNHA FILHO, N.A., LUCAS, A.S. PAPPEN, F.G., RAGOZO, A.M.A., GENNARI, S.M., LUCIA JUNIOR, T., FARIAS, N.A.R., 2008. Fatores de risco de anticorpos anti-Neospora caninum em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ver. Bras. Parasitol. Vet.** 17(1), 301-306.
- DARWICH, L.; CABEZÓN, O.; ECHEVERRIA, I.; PABÓN, M.; MARCO, I.; MOLINA-LÓPEZ, R.; ALARCIA-ALEJOS, O.; LÓPEZ-gatius, F; LAVÍN, S.; ALMERÍA S. Presencee of Toxoplasma gondii and Neospora caninum DNA in the brain of wild birds. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, 2011
- DAVIDSON, 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, p.1683-1689, 1999.
- DESMONNTS, G; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of Toxoplasma infection: Method for increasing sensitivity and specifity. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 11. N. 6, p. 562-568. 1980.
- 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**192, 1269-1285, 1988a.
- DUBEY, J.P., HATTEL, L., LINDSAY, D.S., TOPPER, M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. Journal of the Am Vet Med Assoc 193, 1259-1263, 1988b.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. American **Journal Veterinary Research**, v. 50, n. 9, p. 1578-1579, 1989b.
- DUBEY, J.P.; KOESTNER, A.; PIPER, R.C. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.197, n.7, p.857-860, 1990.
- DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Neosporosis. **Parasitology Today**. V.9, n.12, p452-458, 1993.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of Neospora caninum and Neosporosis. Veterinary Parasitology, v. 67, n. 1, p. 1-59, 1996.
- DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary** parasitology v.84, p. 349-367, 1999a
- DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.349-367, 1999.
- DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.;

- KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; McALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology*, Nova lorque, v. 32, n. 8, p. 929-946, jul. 2002. doi:10.1016/S0020-7519(02)00094-2
- DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean J. Parasitol.** 41, 1–16, 2003.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals The last five years. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 180, n. 1-2, p. 90-108, ago. 2011.
- FARIAS, N.A.R. **Neosporose Uma enfermidade a ser estudada**. Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Laboratório de Parasitologia, 2008.
- FERNANDES, B.C.T.M., GENNARI, S.M., SOUZA, S.L.P., CARVALHO, J.M., OLIVEIRA, W.G., 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. **Vet Parasitol** *123*: 33–40, 2004
- FIGUEREDO. L.A. et al. Occurrence of antibodies to Neospora caninum and Toxoplasma gondii in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 157, p. 9-13, 2008.
- FUCHS, N., SONDA, S., GOTTSTEIN, B. et al. Differential expression of cell surfaceand dense granule-associeted *Neospora caninum* proteins in tachyzoites and bradyzoites. **Journal of Parasitology**, v.84, p.753-758, 1998
- GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'ÁURIA, S.N.R. et al. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.106, p.177-179, 2002.
- GIRALDI, J.H.; BRACARENSE, A.P.; VIDOTTO, O. neosporose canina revisão. Clínica veterinária. N.34, p.50-56, 2001
- GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.86, p.71-5., 1999b.
- GONDIM, L. F.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, P. O.; JESUS, E. E.; RIBEIRO, M. B.; FERNANDES, H. S.; ALMEIDA, M. A.; FREIRE, S. M.; MEYER, R.; MCALLISTER, M. M.: Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, v.101, p. 1-7, 2001.
- GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (Canis latrans) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal Pararistology**. *V. 34*, *p. 159-161*, *2004*.
- GONDIM, L. F.; McALLISTER, M. M.; MATEUS-PINILLA, N. E.; PITT, W. C.; MECH, L. D.; NELSON, M. E. Transmission of *Neospora caninum* between wild and 18

domestic animals. **The Journal of Parasitology**, Lincoln, v. 90, n. 6, p. 1361-1365. dez. 2004b.

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

GUIMARAES, J. S. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n. 1/2, p. 1-8, 2004.

GUIMARAES, M.S. et al., Ciclo Silvestre de *Neospora caninum* e sua importância na epidemiologia para os animais domésticos. **Trabalho apresentado à disciplina de seminários Aplicados do Programa de pós Graduação em Ciência Animal** da Escola de Veterinária e Zootecnia da universidade Federal de Goiás, 2011.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by Neospora caninum. **Parasitology**, v. 112, n. 2, p. 183-197, 1996.

HEMPHILL, A., GAJENDRAN, N., SONDA, S., Identification and characterisation of a dense granule-associated protein in *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.429-438, 1998.

HEMPHILL, A. et al. An European perspective on Neospora caninum. **InternationalJournal for Parasitology**, v.30, no, 8, p. 877-924, jul., 2000.

HORNA M., Segundo et al. Seroprevalencia de Neospora caninum en caninos en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev. investig. vet. Perú* [online]. 2003, vol.14, n.2 [citado 2014-02-08], pp. 150-154. Disponible en: ">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-911720030002000009&lng=es&nrm=iso>">http://www.scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-

JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJÖRKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and soroepidemiology of *Neospora caninum*- associated bovine abortion. *International Journal for Parasitology*, v. 32, p.631-636, 2002.

JESUS, E. E. V.; SANTOS, P. P. M.; BARBOSA, M. V. F.; PINHEIRO, A. M.; GONDIM, L. F. P.; GUIMARÃES, J. E.; ALMEIDA, M. A. O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia – Brasil. Brazilian **Journal Veterinary** Research Animal Sciences. V. 43, n. 1, p.5-10, 2006

JESUS, E.E.; ALMEIDA, M.A.; ATTA, A.M. ANTI-NEOSPORAL IGG AND IGG ANTIBODIES IN CANINE NEOSPOROSIS. **Zoonoses Public Health**. 2007; 54 (9-10): 387-92.

KING, J. S. et al. Australian dindoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.

- LA PERLE, K.M., DEL PIERO, F., CARR, R.F., HARRIS, C., STROMBERG, P.C., 2001. Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive thrapy. **J. Vet. Diagn. Invest.** 13(3), 252-255.
- LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. Am. J. Vet Res 50, 1981-1983, 1989.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dogs is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**. *V.82*, *n.4*, *p.* 327-333, 1999.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; HOFFMANN, D.C.S.; DITTRICH, J.R.. Neosporose equina revisão. **Archives of Veterinary Science**. v.11, n.3, p.1-10, 2006.
- MAGALHÃES, V. C. S.; SICUPIRA, P. M. L.; GONDIM, L. F. P.; MUNHOZ, A. D. Frequência de anticorpos contra Neospora caninum em cães do município de Ilhéus, Bahia. **Ciência Animal Brasileira.** V. 10, n. 1, p. 306-311, 2009.
- MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHMAM, A.E.; CONRAD, P.A. description of a new Neospora species (Protozoa: Apicomplexa: sarcocystidae). **The jornal of Parasitology**, Lawrence, v. 84, n. 5, p. 983-991. 1998
- 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 of Parasitology, v. 28, p. 1473-1478, 1998**
- MELO, C. B.; LEITE, R. C.; SOUZA, G. N. Freqüência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- MELO, C.B.; PINHEIRO, A.M.; OLIVEIRA, A.A.; DANTAS, M.D.M.; JESUS, E.E.V.; ALMEIDA, M.A.O.; REIS, A.V.; FEITOSA, A.S.; LEITE, R.C. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães em Aracaju, Sergipe. **In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 30, 2003. Resumo dos Tabalhos Científicos, Resumo 012 (Meio Digital), 2003
- Mineo, T.W., Silva, D.A., Costa, G.H., von Ancken, A.C., Kasper, L.H., Souza, M.A., Cabral, D.D., Costa, A.J., Mineo, J.R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. **Vet Parasitol**. 98, 239-245, 2001.
- MORAES, C.C.G., MEGID, J., PITUCO, E.M., OKUDA, L.H., DEL FAVA, C., STEFANO, E., CROCCI, A.J., 2008. Ocorrencia de anticorpos anti- *Neospora caninum*em cães da microrregião de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol**. Vet. 17(1), 1-6.
- MOTA, R.A.; FERRE, I.; FARIA, E.B. Situação da neosporose bovina no Brasil e métodos diagnóstico. **Medicina Veterinária**, Recife, v.2, n.1, p.38-48, jan-mar, 2008 ISSN 1809-4678

- MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. Distribuição de anticorpos contra Neospora caninum em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 101-104, 2006.
- NEVES, I.V.; TUDURY, E.A.; COSTA, R.C. Fármacos utilizados no tratamento das afecções neurológicas de cães e gatos. **Seminário Ciencias Agrárias, Londrina**, v. 31, n.3, p. 745-766, jul./set. 2010
- OLIVEIRA, J. M. DE Obtenção de antígeno de Neospora caninum para realização de um teste sorológico com base em reação de imunofluorescencia indireta. 2004. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande MS Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Campo Grande, 2004.
- PAIXÃO, T. A.; SANTOS, R. L. Encefalite por *neospora caninum* e toxoplasma gondii em cães. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 48, p. 44-52, 2004.
- PALAVICINI, P.; ROMERO, J.J.; DOLZ, G.; JIMÉNEZ, A.E.; HILL, D.E., DUBEY, J.P. Fecal and serological survey of Neospora caninum oin farm dogs in Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 265-270, 2007.
- PARE, J., Hietala, S.K., Thurmond, M.C. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora sp.* infection in cattle. **J Vet Diagn Invest**. 7, 352-9, 1995.
- PARE, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M. MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, p. 1595-1598. 1998
- PARÉ, J. et al. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of Neospora sp. infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.273-275, 1995. Disponível em: http://jvdi.org/cgi/reprint/7/2/273.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2010.
- RODRIGUES, A.A.R. et al. 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
- RODRIGUEZ S.H., MORENO A., POLOMINO P.(1999). NEOSPOROSIS. In: Campillo M and Vazquez F(eds): Parasitologia Veterinária. McGraw-Hill. 330-332. 1990.
- ROMERO, J.J., PEREZ, E., FRANKENA, K., Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. **Vet. Parasitol.** 123, 149-159, 2004.
- SARTOR, I. F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L. C.; PITUCO, E. M.; DAL PAI, V.; SARTOR, R. Ocorrencia de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e

- de corte da região de Presidente Prudente, SP. Arquivos do Instituto Biológico, v.72, n.4, p. 413-418, 2005.
- SAWADA, M. et al. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.60, p.853-854, jul.,1998.
- SOUZA, L.M.; NASCIMENTO, A.A.; FURUTA, P.I.; BASSO, L.M.S.; SILVEIRA, D.M.; COSTA, A.J. Antibodies for Neospora caninum and Toxoplasma gondii in water buffaloes from São Paulo State, Brazil. **Semin Cienc Agrar**. 2001;22:39-48.
- SOUZA, S. L. P. Soroprevalência de anticorpos anti-Neospora caninum e Toxoplasma gondii em cães de propriedades rurais produtoras de leite B da Região Norte do Estado do Paraná. 2001. p. 115. **Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo**, São Paulo.
- SOUZA, S.L.P.; GUIMARÃES Jr, J.S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of Neospora caninum antibodies in dogs form dairy cattle farms in Paraná, Brazil. **Journal of parasitology**, v. 88, p. 408-409, 2002.
- TARANTINO, C., ROSSI, G., KRAMER, L.H., PERRUCCI, S., CRINGOLI, G., MACCHIONI, G., 2001. *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* simultaneous skin infection in Young dog in Italy. **Vet. Pararasitol**. 102, 77-83
- TEXEIRA, W.C.; SILVA, M.I.S.; PEREIRA, J.G.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P. Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum em São Luís*, Maranhão. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.4, p.685-687, 2006.
- TEXEIRA, M.C., Soroepidemiologia de Neospora caninum em cães no município de Porto Alegre-RS. 2010 T266s **Dissertação (Mestrado) Universidade federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)**, BR-RS, 2010
- TREES, A.J.; GUY, F.; TENNANT, B.J.; BALFOUR, A.H.; DUBEY, J.P. Prevalence of antibodies to Neospora caninum in population of urban dogs in England. **Veterinary Record**, v. 132, p. 125-126, 1993
- TREES, A.J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. **Veterinary Record.** 1996;139:18 439-443
- UZÊDA, R. S., PINHEIRO, A. M., FERNÁNDEZ, S. Y., AYRES, M. C. C., GONDIM, L. F. P., ALMEIDA, M. A. O., 2007. Seroprevalence of Neospora caninum in dairy goats from Bahia, Brazil. **Small Rum**. Res. 70, 257-259.
- VA´CLAVEK, P.; SEDLA, K.; H°URKOVA, L.; VODRA´ZKA, P.; SEBESTA, R. S.; KOUDELA, B. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 1, p. 35- 41, 2007
- 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. **Ciência. Rural**, Santa Maria, v. 36, n.6, p.1948-1951, nov./dez., 2006.

WALKER B. *Neospora caninum* infection in cattle, Agnote DAI – 314, **Veterinary Officer new South Wales Agriculture**. Australia, Ed. Gunnedah, 2004.

WANHA, K.; EDELHOFER, R.; GABLER-EDUARDO, C.; PROSL, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 3-4, p.189-193, 2005.

WESTON J.F., HEUER C., WILLIAMSON N.B., Efficacy of a Neospora caninum Killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle. **Prev. Vet. Med**. 2012 feb 1; 103 (2-3): 136-44

WOLF, D.; SCHARES, G.; CARDENAS, O.; HUANCA, W.; CORDERO, A.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J.; GAULY, M.; ZAHNER, H.; BAUER, C. Detection of specific antibodies to Neospora caninum and Toxoplasma gondii in naturally infected alpacas (Lama pacos), Ilamas (Lama glama) and vicuñas (Lama vicugna) from Peru and Germany. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 130, n. 1-2, p. 81-87, jun. 2005.

YAI, L.E.O. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em animais silvestres brasileiros. **In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE** *Neospora caninum*, 2005, São Paulo – SP. **Anais...** São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, 2005 p. 24-26.

9.0 APÊNDICE A

<u>NEOSPOROSE</u> Inquérito Epidemiológico				
DATA DE COLETA://		Nº AMOSTRA:		
1. <u>IDENTIFICAÇÃO DO CAS</u>	<u>O:</u>			
Nome: Proprietário: Endereço: Procedência: () adoção (0 *Foi capturado há quanto tempo:			Sexo:	
2. INFORMAÇÃO CLÍNICA:				
 Data de início de sinais: Início insidioso: Sinais predominantes: 	Inicio súbito:			
() Incontinência urinária e fecal() Flacidez/atrofia muscular() Dificuldade na deglutição	() Miosite () Cegueira () Convulsões	() Feb () Anorexia () Outros:	ore	
Há conhecimento de cães com	sinais idênticos? Qual (s)?	()N () S		
3. INFORMAÇÃO EPIDEMICO O animal viajou/ausentou-se da re ()N ()S, para onde? Ambiente: () Casa* () passeios na rua: () nunca () Passeio livre (sem guia) Convive com outros animais? ()	pátio cimentado () pá () eventualmente () passeio restrito – co N () S Quais?	tio gramado/terra* () com frequênd m guia	() apartamento cia qual? () misto	
Relação de parentesco com outros Limpeza do ambiente e recolhime ()nunca () mensal () semanal (Existe área alagadiça que o anima Há reserva de mata/cerrado que o *Presença de gatos de rua? ()N (Tem acesso ao comedouro/bebedo *Presença de galinhas/aves? () N Tem acesso ao comedouro/bebedo	cães do ambiente? () N () nto das fezes? () diário () outra l tem acesso? () N () S animal tem acesso? () N () S ouro? () N () S) S (especificar no	item 4.)	
Alimentação: Principal dieta - (*alimentos utilizados: ** com que frequência é oferecida				
Qualidade da água:	Cocho de outros animais Mineral	() Poço	() Bebedouro	

Gestação, parto e peri-parto:
Se fêmea, já ficou gestante alguma vez? () N ()S
Notou-se alguma alteração nos filhotes? Qual(s)?() N ()S
Idade ao primeiro parto:
Histórico de aborto? () N () S
Apresenta cio recorrente? () N () S
Frequência de natimorto:
O Filhote mamou o colostro? Quanto tempo? () N () S
Vermifugação: () nunca () atrasado* () em dia*
*Com que frequência, e qual produto/remédio utilizado?
Outras informações:
Doenças recentes: () N () S*
*Qual tratamento utilizado:
Histórico de Traumatismo? () N () S Qual região?
4. INFORMAÇÃO ADICIONAL